Aus der Chirurgischen Universitäts-Klinik in Marburg
(damaliger Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger)

Untersuchungen über die zellkernmorphologische Geschlechtserkennung bei Mammacarcinomen

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Elisabeth Maria Wüst, geb. Jung

aus Hausen

Marburg 1969

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Chirurgischen Universitäts-Klinik in Marburg
(damaliger Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger)

Untersuchungen über die zellkernmorphologische Geschlechtserkennung bei Mammacarcinomen

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Elisabeth Maria Wüst, geb. Jung

aus Hausen

Marburg 1969

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 24. April 1969
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. W. Straub
Referent: Doz. Dr. med. K. Hupe
Correferent: Prof. Dr. med. R. Buchholz

M E I N E R M U T T E R

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Stadieneinteilung der Mammacarcinome	2
III.	Behandlungsmethoden der Mamma-carcinome	3
IV.	Barr'sche Chromatinkörperchen	7
V.	Zellkernmorphologisches Geschlecht und Hormontherapie	16
VI.	Fragestellung	18
VII.	Material und Methodik	18
VIII.	Untersuchungsergebnisse	25
IX.	Statistik	38
X.	Diskussion	46
XI.	Zusammenfassung	56
XII.	Literaturverzeichnis	58

Lebenslauf

Akademische Lehrer

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. Einleitung 1

II. Tradescantia als Versuchsobjekt 2

III. Spezielle Methoden der Chromosomen-
analyse 3

IV. Spontane Chromosomenaberrationen 7

V. Induzierte Chromosomenaberrationen
durch Röntgenstrahlen 15

VI. Fixierung 34

VII. Schnitte und Methode 38

VIII. Auswertung der Präparate 45

IX. Ergebnisse 52

X. Diskussion 66

XI. Zusammenfassung 69

XII. Literaturverzeichnis 70

Lebenslauf

Akademische Lehrer

I. EINLEITUNG

Seit feststeht, daß der Brustkrebs der Frau hormonell beeinflußbar ist, hat man dies therapeutisch zu nutzen versucht und Patientinnen mit metastasierendem Mammacarcinom vorwiegend mit gegengeschlechtlichen Hormonen behandelt. Die Behandlungsergebnisse waren jedoch nicht in allen Fällen befriedigend. Es wurde immer wieder die bemerkenswerte Beobachtung gemacht, daß nur etwa 6o % der Patientinnen günstig ansprechen auf gegengeschlechtliche Hormone. In etwa 3o % der Fälle blieb das Tumorwachstum unbeeinflußt oder es kam sogar zu einer Exacerbation (17, 25, 32, 33, 34, 35, 36, 5o, 51, 52, 53, 1o3).

1957 wiesen HIENZ und EHLERS (53) sowie KIMEL (61) nach, daß es zwei Gruppen von Mammacarcinomen gibt, die unterschiedliche Häufigkeit an BARR'schen Kernkörperchen (BKK) zeigen. Sie teilten in zellkernmorphologisch (zkm) "weibliche", Barr-positive, und zkm "männliche", Barr-negative, Tumoren ein. An ihrem Untersuchungsmaterial stimmte das zkm Geschlecht der Tumoren in nur etwa 6o % mit dem der Tumorträgerinnen überein. In 3o % der Fälle waren die Mammacarcinome der Frauen Barr-negativ. Diese Prozentzahlen entsprechen auffallenderweise den Angaben über Erfolge bei der Hormontherapie.

In dieser Arbeit sollen nun aus eigenem Krankengut zkm Untersuchungen des Mammacarcinoms nochmals ausgeführt werden. Es soll untersucht werden, ob sich zwei Typen von Mammacarcinomen nach dem zkm Geschlecht unterscheiden lassen und ob Beziehungen bestehen zwischen der Anzahl der BKK einerseits und dem histologischen Carcinomtyp, dem Alter der Patientinnen, dem Stadium des Carcinomwachstums sowie der Dauer der Tumoranamnese andererseits.

Die Identifizierung der BKK, die in normalem Gewebe und in gutartigen Tumoren leicht sein mag und in allen Fällen gelingt, erweist sich bei bösartigen Tumoren in manchen Fällen als recht schwierig und kann sogar unmöglich sein. Ein stoffwechselgestörter, entarteter Zellverband macht durch Mitosenreichtum, vermehrtes Auftreten von Vakuolen und Chromatinbröckeln die eindeutige Erkennung der BKK oft problematisch. Hinzu kommt, daß der chromosomengebundene BKK durch die abartigen Variationen im Chromosomensatz der Krebszelle sowohl vervielfacht als auch verloren sein kann.

II. STADIENEINTEILUNG der Mammacarcinome

Will man Behandlungsergebnisse des Mammacarcinoms den Angaben anderer Untersucher gegenüberstellen, so muß das ausgewertete Krankengut vergleichbar sein, d.h. es müssen bei einem Tumorleiden hinsichtlich Stadieneinteilung und Therapie genaue Angaben vorliegen, die einen Vergleich ermöglichen.

In unserer eigenen Auswertung haben wir als Stadieneinteilung die von STEINTHAL - ANSCHÜTZ angegebene zugrunde gelegt (s.a. BRUNNER (2o)). Es bedeutet:

Stadium Steinthal I: Beschränkung des Tumors auf die Brustdrüse, keine Verwachsung mit der Umgebung, keine Lymphknotenmetastasen;

Stadium Steinthal II: Carcinomatöser Befall axillärer Lymphknoten, Verwachsung mit der Umgebung, d.h. mit der bedeckenden Haut und der Pectoralismuskulatur;

Stadium Steinthal III: Lymphknotenmetastasen supraclaviculär, cervical, retrosternal, im Bereich der Mammariagefäße, an den Hili, im Mediastinum. Tumor exulceriert und fixiert. Fern- oder generalisierte Metastasen.

In der Literatur sind von anderen Untersuchern Stadien gewählt, wie sie z.B. im Lehrbuch der Chirurgie von STICH und BAUER (12o) angeführt sind. Nach dieser Stadieneinteilung bedeutet:

Stadium I : Beschränkung des Tumors auf die Brustdrüse;

Stadium II : carcinomatöser Befall der axillären Lymphknoten;

Stadium III: Lymphknotenmetastasen supraclaviculär, cervical, retrosternal, im Bereich der Mammariagefäße, an den Hili und im Mediastinum;

Stadium IV : Übergreifen auf die Thoraxwand, Fern- oder generalisierte Metastasen.

Im eigenen Untersuchungsmaterial ist das Carcinomwachstum nach Steinthal-Stadien eingeteilt. Die in dieser Arbeit zitierten Autoren verwenden unterschiedliche Stadieneinteilungen, die aus den angegebenen Arbeiten z.T. nicht klar ersichtlich sind.

III. BEHANDLUNGSMETHODEN der Mammacarcinome

Die operative und Strahlenbehandlung des Mammacarcinoms, wie sie in den Universitätskliniken Marburg ausgeführt werden, sollen hier nur kurz erwähnt werden, da sie für

die Fragestellung dieser Untersuchung wenig entscheidend sind. Die hormonelle Behandlung des Mammacarcinoms hingegen soll - dem Rahmen dieser Untersuchung entsprechend - ausführlich dargestellt werden.

1. Operative Behandlung

In der chirurgischen Universitätsklinik Marburg wird beim Mammacarcinom die Radikaloperation nach ROTTER-HALSTED ausgeführt. Nach einer solchen Radikaloperation beträgt im Stadium Steinthal I die 5 Jahresüberlebenszeit etwa 8o % (91, 122), nach BAUER 95 % (14). Schon im Stadium II sinken die 5 Jahresüberlebenschancen auf 4o % bis 45 % (14, 91, 122), im Stadium III auf ca. 2o % und sind im Stadium IV praktisch O % (26, 91).

Um diese Ergebnisse weiter zu verbessern, wurde die Kombinationsbehandlung von operativem Eingriff und Strahlentherapie empfohlen, die allerdings verschieden angewandt oder ausgeführt wird.

2. Strahlentherapie

Die präoperative Bestrahlung des Tumors und der regionären Lymphknotengebiete wird teils positiv, teils negativ beurteilt (29, 32, 41, 42, 72, 73, 89, 119). Sie wird an der Marburger Universitätsklinik nicht angewandt, und zwar aus folgenden Gründen:

a) einwandfreie histologische Diagnose nicht mehr möglich,
b) verlängerte präoperative Wartezeit,
c) mögliche Wundheilungsstörung,
d) Operationsabneigung bei den Patientinnen, die im Rückgang des Tumors eine Heilung sehen.

Statt dessen wird routinemäßig die postoperative Strahlentherapie ausgeführt. Hierdruch werden im Stadium Steinthal II die 5 Jahresüberlebensquoten um etwa 1o % angehoben (122). Eine Änderung der Behandlungsergebnisse ließ sich im Stadium I nicht beweisen (14). Bei inoperablen Fällen werden mit der Strahlentherapie als palliativer Maßnahme 5 Jahresüberlebenszeiten von 13 % bis 3o % erreicht (5, 27, 84).

3. Hormonelle Behandlung

Da die Ergebnisse nach ausschließlich chirurgischer und strahlentherapeutischer Behandlung beim Mammacarcinom immer noch unbefriedigend waren, suchte man nach neuen Methoden der Behandlung. Seit HUGGINS (56) hat die Hormontherapie als weitere Möglichkeit der Bekämpfung des metastasierenden Mammacarcinoms immer mehr Bedeutung erlangt. Sie hat bis heute in Ausmaß, Indikation und Zeitpunkt ihrer Anwendung eine erhebliche Wandlung erfahren.

Zunächst glaubte man, daß die Carcinome jüngerer Patientinnen günstig beeinflußt würden durch Androgene (111, 112), während Östrogene als Mittel der Wahl galten bei Frauen, die jenseits des Klimakteriums an einem Mammacarcinom erkrankten (39, 83). Diese Methode, Patientinnen vor der Menopause generell Androgene, nachher Östrogene zu verabreichen, war infolge ihrer schematischen Anwendung mit einer relativ hohen Versagerquote belastet (1o2, 1o5). Gleichsinnig mit der Androgenzufuhr, meist zeitlich davor, wurde die Ovariektomie ausgeführt, um die Eigenöstrogenproduktion weitgehend auszuschalten. Da in einigen Fällen deutliche Remissionen beobachtet wurden, ging man dazu über, den Hormonreglerkreis an höherer Stelle zu durchbrechen. Tatsächlich erwiesen sich Adrenalektomie und Hypophysektomie oft in den Fällen als günstig, die vorher gut auf Kastration bzw. Androgenzufuhr reagierten (16, 21, 38, 83). Die beidseitig ausge-

führte Adrenalektomie zeigte in einigen Fällen gute Remissionen (14, 48, 56, 92), die aber oft nur von kurzer Dauer waren (48). Sowohl Adrenalektomie wie Hypophysektomie waren bei dem Umfang der Operation und dem oft schlechten Krankheitszustand mit erheblicher Mortalität belastet (16).

Um das Operationsrisiko im Rahmen der hormonellen Therapie zu verringern,versuchte man statt der Ovariektomie die Röntgenkastration. Dabei ist es jedoch nicht sicher, ob trotz Ausbleiben der Menstruation die Hormonproduktion der Ovarien völlig stillgelegt ist. Es wurden Fälle beobachtet, in denen nach Röntgenkastration Schwangerschaften auftraten (78).

Die chirurgische Ovariektomie wird deshalb heute der Röntgenkastration vorgezogen.

Von der beidseitigen Adrenalektomie sowie der Hypophysektomie wurde aus Gründen der hohen Mortalität wieder abgegangen. Man bevorzugt heute, wenn dies überhaupt noch ausgeführt wird, die radiologische Hypophysenausschaltung durch Spickung mit Yttrium oder Radiogold (17, 1o9).

Wie in diesem kurzen Überblick anklingt, ist die Hormontherapie beim Mammacarcinom immer noch problematisch, ihre Indikation umstritten und ihre operativ-technische Ausführung unterschiedlich. Allgemein wird heute nach folgenden Richtlinien vorgegangen:

a) Jegliche Hormontherapie wird nur beim metastasierenden Mammacarcinom ausgeführt.

b) Im Stadium Steinthal II und III wird bei jüngeren Patientinnen die Ovariektomie, nicht die Röntgenkastration ausgeführt.

c) Es wird nie mehr als eine hormonale Maßnahme zur gleichen Zeit unternommen (83) und deren Erfolg abgewartet.

d) Die Adrenalektomie wird nur noch in Ausnahmefällen ausgeführt, da die Mortalität zu hoch ist.

e) Im Stadium Steinthal III evtl. radiologische Hypophysenausschaltung mit radioaktiven Substanzen.

f) Injektion von Androgenen bzw. Östrogenen im Stadium Steinthal III.

Wie bereits gesagt, ist von großer praktischer Bedeutung, daß nur ein Teil der Patientinnen mit metastasierendem Mammacarcinom günstig auf die Hormontherapie reagiert. Mammacarcinome zeigen bei verschiedenen Patientinnen also ein völlig unterschiedliches Verhalten auf eine Änderung im Hormonsystem. Es stellt sich daher die Frage, ob es gewisse Kriterien gibt, die gestatten, die Hormontherapie gezielt auszuführen. Ein Weg schien zunächst das zellkernmorphologische Verhalten der Mammacarcinome zu sein, d.h. ihr Gehalt an Barr'schen Chromatinkörperchen.

IV. BARR'SCHE CHROMATINKÖRPERCHEN

1. Entdeckung

BARR (11) beschrieb 1949 zum ersten Mal zusammen mit seinem Mitarbeiter BERTRAM ein zellkernmorphologisch unterschiedliches Verhalten zwischen Nervenzellen weiblicher und männlicher Katzen. Am Nucleolus befand sich, kleiner als dieser, ein Chromatinkörperchen, das wegen seiner Beziehung zu jenem als "Nucleolussatellit" bezeichnet wurde. Während er bei weiblichen Katzen in einem hohen Prozentsatz gefunden wurde, etwa im Durchmes-

ser 1 µ betrug und sich stark basophil anfärbte, wurde er bei männlichen Katzen gar nicht oder nur sehr selten gesehen und lag dann an der Grenze des Auflösungsvermögens mit dem Lichtmikroskop.

Spätere Untersuchungen bestätigten dieses Verhalten nicht nur bei vielen anderen Tieren (6, 12, 75), sondern auch beim Menschen (2, 7, 8, 9, 1o, 12, 86, 87, 88). "Diese Untersuchungen ergaben zugleich, daß die charakteristische Lage des Chromatinkörperchens nicht diejenige in der Nachbarschaft des Nucleolus, sondern eine solche an der Innenseite der Zellkernmembran ist" (49, 5o). Barr selbst ließ den Namen "Nucleolus-Satellit" fallen und ersetzte ihn durch die Bezeichnung "Geschlechtschromatin" ("Sexchromatin").

Seit 1953 sind viele Methoden der zellkernmorphologischen Geschlechtserkennung entwickelt worden wie der Test aus polymorphkernigen Leucozyten (26, 63, 65, 67), der Hauttest, der Test aus Mundschleimhaut, Vaginal- und Urethralabstrichen (exfoliative Zytologie) und aus den Sedimenten von Körperflüssigkeiten (24, 37, 49). "Darüber hinaus ist es zumindest beim Menschen möglich, an den Zellkernen aller Gewebe, einschließlich solcher von gut- und bösartigen Tumoren das zkm Geschlecht zu erkennen" (49).

2. Morphologie

Die charakteristische Form der Zellkernkörper ist plankonvex, scharf konturiert, stark basophil, im Lichtmikroskop homogen, etwa 1 µ im Durchmesser. Sie liegen der Zellkernmembran mit der planen Seite an (19). Sie zeigen positive Feulgen'sche Nuclealreaktion, sind mit Kresylviolett, Thionin, Methylgrün-Pyronin, Hämatoxylin, Gallocyanin, Fuchsin und allen Farbstoffen darstellbar, die sich an Nucleinsäure binden (19, 47, 62).

ZANELLA und Mit. (127) beschreiben bikonvexe Formen, BOHLE und HIENZ (19) sowie DIHLMANN (28) außerdem Sonderformen: Makro-, Mikro-, Dreiecks- und Längsformen. "Sie scheinen eine gewisse Beziehung zu den Geschlechtern zu haben, - ähnlich wie dies KOSENOW (68, 69) bei den Anhangsgebilden der Leukozyten beschrieben hat - da die klassische und die Dreiecksform häufiger bei weiblichen, die Makro- und Längsform häufiger bei männlichen Individuen zu finden ist, während die Mikroform keine Bevorzugung des Geschlechtes aufweist und etwa gleichhäufig bei beiden gefunden wird. Diese Relationen scheinen dagegen zu sprechen, daß es sich nur um Produkte verschiedener Projektion auf die Schnittebene oder von Anschnitten handeln könnte" (19, 49).

3. Häufigkeit

a) in normalem Gewebe:

Die prozentuale Häufigkeit der Kernkörperchen soll nach Untersuchungen vieler Autoren (12, 34, 47, 5o, 79, 8o, 81, 87, 9o, 1o7, 115) in den verschiedensten normalen Geweben des Menschen bei männlichen Individuen zwischen 0 % und höchstens 2o %, bei weiblichen Individuen zwischen mindestens 14 % und fast 1oo % schwanken. Nur bei Placentargewebe wurden niedrigere Werte angegeben, und zwar für männliches Gewebe zwischen o,33 % und 2,31 %, für weibliches Gewebe zwischen 8,7 % und 17,3 % (19). SCHWARZACHER (114) fand in Fibroblastenkulturen bei weiblichen Zellen relativ hohe, bei männlichen Zellen niedrige Geschlechtschromatinwerte bzw. kein Geschlechtschromatin.

Für jedes Gewebe wird ein fast konstanter Wert angegeben, wobei Überschneidungen zwischen den Werten bei männlichem und weiblichem Gewebe nicht vorkommen sollen. Es bleibt nach Bohle und Hienz (19) vielmehr ein ein-

deutiges Intervall, das eine klare Differenzierung zwischen weiblichem und männlichem Gewebe zuläßt und den Ausschluß fraglicher Fälle gewährt.

b) in gutartigen Tumoren:

In gutartigen Tumoren liegen die Verhältnisse in den meisten Fällen wie in normalem Gewebe (23, 5o, 86, 87). Nur die gutartige Prostataadenomyomatose scheint eine Ausnahme zu machen. Es werden z.T. sehr niedrige (127), z.T. jedoch auch sehr hohe Werte (17, 124) an Geschlechtschromatin in den enukleierten Prostataadenomen gefunden.

Auch die gutartigen Tumoren des Uterus weisen unterschiedlich hohe Werte auf (23).

c) in bösartigen Tumoren:

Mit Ausnahme des Mammacarcinoms der Frau liegen auch in bösartigen Tumoren die Werte ähnlich wie in normalem Gewebe. Jedoch liegt im allgemeinen der prozentuale Anteil der Kerne, die ein Chromatinkörperchen enthalten, niedriger, da die Beurteilung von histologischen Schnitten malignen Gewebes schwieriger ist und viele fragliche Zellbefunde ausgeschlossen werden (51, 95, 1oo, 1o4). Für die Auszählung an bösartigen Geschwülsten gilt (1o3): Je kritischer die Beurteilung, um so niedriger wird der ermittelte Prozentsatz Barr-positiver Kerne werden. Es muß sich also jeder Untersucher selbst eine Grenze zwischen Barr-positiven und Barr-negativen Befunden festsetzen. Diese Grenze darf keinesfalls ganz scharf gezogen werden.

Beim Mammacarcinom der Frau wird in 3o % bis 5o % ein Barr-negativer Befund erhoben. EHLERS und HIENZ (32, 51, 53) geben für chromatin-negative Tumoren Werte von 0 %

bis 2,5 %, für chromatin-positive Tumoren Werte von 14 % bis 3o % an. REGELE (1o5) gibt entsprechende Werte von weniger als 6 % bzw. mehr als 2o % BKK an.

4. Über das Substrat der BARR'schen Chromatinkörperchen

Da nun die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Chromosomenstatus und Sex-Chromatin auftauchen muß, sei zunächst das Verhalten der Chromosomen im normalen Zellzyklus in großen Zügen dargestellt.

Ein normaler diploider Chromosomensatz einer menschlichen Zelle besteht aus 46 Chromosomen, die sich aufteilen in 22 Autosomenpaare (Euchromosomen) und ein Geschlechtschromosomenpaar (Heterochromosomen). Bei der Frau besteht dies aus 2 X-Chromosomen, beim Mann aus einem X- und einem relativ kleinen Y-Chromosom. Die Chromosomen selbst enthalten eu- und heterochromatische Anteile, die sich durch Färbbarkeit und unterschiedlichen Gehalt an Desoxyribonucleinsäure (DNS) unterscheiden.

Bei der Zellteilung werden zunächst in der Prophase die Chromatinteile des Kerns zu Chromosomen geordnet, die sich spiralisieren und einzeln sichtbar werden. In der Metaphase bildet sich die "Kernspindel" aus, indem die Chromosomen sich sternförmig zwischen zwei Centriolen anordnen. Die Teilung der Chromosomen, die "Replikation" (115) ist dann bereits erfolgt. Sie soll nach autoradiographischen Bestimmungen mit markierten DNS-Bausteinen in die Interphase fallen, in der die Chromosomen noch entspiralisiert sind (115). In der Anaphase rücken die geteilten Chromosomen auseinander und bilden den Diaster. In der Telophase schnürt sich auch das Protoplasma durch. Die Chromosomen entspiralisieren sich wieder.

Diese Schritte vollziehen jedoch nicht alle Chromosomen

gleichzeitig und in gleichem Ausmaß. "Wir sprechen von heterozyklischem Verhalten bestimmter Chromosomen. Die Autosomen zeigen untereinander nur geringe Unterschiede. Dagegen sind die beiden X-Chromosomen einer weiblichen Zelle - zumindest in der Mehrzahl der Fälle - verschieden. Eines der zwei X-Chromosomen verhält sich so wie das Gros der Autosomen, es ist isozyklisch. Das andere X-Chromosom ist ausgesprochen heterozyklisch: 1. Entspiralisiert es sich n i c h t so stark wie die übrigen Chromosomen, es bleibt auch während der Interphase kondensiert, d.h. positiv heterochromatisch oder heteropyknotisch ... 2. Repliziert es sich relativ spät während der S-Periode (Synthese-Periode), es hinkt mit der DNS-Synthese hinterdrein" (115).

Versuche, die Natur der BARR'schen Chromatinkörperchen zu deuten, haben bisher noch kein restlos befriedigendes Ergebnis gebracht.

Die Barr'schen Chromatinkörperchen stellen nach BARR u.a. (8, 12, 74, 75, 1o6) heterochromatische Anteile der beiden X-Chromosomen dar, die bei einem weiblichen Individuum mit dem Lichtmikroskop sichtbar zu machen seien, während bei männlichen Individuen die Kombination des X-Chromosoms mit einem Y-Chromosom durch dessen Kleinheit morphologisch nicht in Erscheinung trete. Barr (6) zeigte mit Hilfe der Feulgenschen Färbemethode, daß der Chromatinkörper DNS enthält im Gegensatz zum Nucleolus, der RNS enthält und sich mit der Feulgen-Färbung nicht darstellen läßt (6, 12).

KOSENOW und PFEIFFER sowie OHNO und Mitarb. (64, 66, 94) halten das "Geschlechtschromatin" für eine geschlechtsspezifische Chromatinverdichtung, die entweder durch ein einzelnes X-Chromosom oder Teile von diesem hervorgerufen seien. Untersuchungen an Patienten mit Abnormitäten im Chromosomensatz wie das Klinefelter-Syndrom, das

Ullrich-Turner-Syndrom, die testikuläre Feminisierung u.a.m. sollen eine konstante Beziehung zwischen der Anzahl von X-Chromosomen und dem sog. Geschlechtschromatin erkennen lassen unabhängig vom Y-Chromosom. Es soll die Höchstzahl der Chromatinkörperchen in einer Zelle die Anzahl der X-Chromosomen minus eins sein (47, 66, 85, 87, 95, 117).

Entgegen der Meinung, daß die Chromatinkörperchen geschlechtschromosomaler Herkunft seien, nehmen SEGAL und NELSON (116) einen autosomalen Ursprung an. Jede weibliche Zelle soll geschlechtlich inaktive männliche Determinatoren enthalten, die an die Autosomen gebunden sind und dem X-Chromosom als weiblichem Determinator gegenüberstehen. X-Chromosomen bestimmen ein weibliches Geschlecht, während ein X-Chromosom neben einem Y-Chromosom zu männlichem Geschlecht führt. Nach der Meinung der Autoren müssen nun außerhalb des X-Chromosoms gelegene männliche Determinatoren einer weiblichen Zelle heteropyknotisch werden und stellen dann den Barr'schen Zellkernkörper dar, der ein sekundäres Geschlechtsmerkmal bildet, da er selbst weder durch Hormone noch durch Kastration beeinflußbar sei.

HIENZ (5o) beschreibt 1959 die Barr'schen Chromatinkörperchen als tertiäre Geschlechtsmerkmale, "Merkmale, die wohl eine Geschlechtsbezogenheit aufweisen, deren Deutung aber sehr schwer, höchstens aus der geschlechtsunterschiedlichen Gesamtkonstitution der Individuen möglich ist. Sie sind morphologischer, aber auch physiologischer, besonders stoffwechselphysiologischer Art ..." und zeigen keine hormonale Beeinflußbarkeit (5o, 52, 8o). Sie als Anteile der beiden X-Chromosomen aufzufassen, "widerspricht zunächst die Tatsache, daß auch beim männlichen Geschlecht in einem gewissen Prozentsatz, wenn auch in einem wesentlich geringeren als beim weiblichen, das sogen. Geschlechtschromatin vorkommt". Nimmt man je-

doch an, daß in männlichen Kernen "morphologische Äquivalente der Barr'schen Zellkernkörper" vorkommen, so muß man auch solche Äquivalente in weiblichen Kernen annehmen. Damit ist das eigentliche Geschlechtschromatin in Frage gestellt und nicht mehr faßbar (5o). Außerdem finden sich bei weiblichen Individuen Barr'sche Chromatinkörperchen oft in geringer Prozentzahl (z.B. bei der Placenta in 8 - 15 %), die bei X-chromosomalem Ursprung der Kernkörperchen viel höher liegen müßte (5o). Hinzu kommt, daß "der Prozentsatz der Geschlechtschromatine bei beiden Geschlechtern von Gewebe zu Gewebe wechselt, innerhalb der einzelnen Gewebe aber eine auffallende Konstanz ... zeigt. Es hat also den Anschein, als ob jedes Gewebe seinen eigenen diesbezüglichen Index habe" (5o).

Wie umstritten das Substrat der Barr'schen Kernkörperchen noch ist, zeigen neuere Untersuchungen (1964), die den Zusammenhang zwischen Chromosomenstatus und Sexchromatin einer Zelle näher darlegen. SCHWARZACHER (115) hält das heterozyklische, heteropyknotische (77) X-Chromosom, das sich im Zellteilungszyklus wenig entspiralisiert und spät repliziert, für das sog. Sexchromatin. In einem normalen weiblichen Chromosomenstatus, zu dem neben den Autosomen ein isozyklisches X-Chromosom gehört, kann das andere X-Chromosom, das sich also heterozyklisch verhält, zu einem Sex-Chromatin kondensiert bleiben (115). Eine normale weibliche Zelle enthält daher e i n e n Barr'schen Kernkörper, eine männliche Zelle keinen Barr'schen Kernkörper. In polyploiden bzw. aneuploiden Chromosomensätzen ist die Höchstzahl der Barr'schen Chromatinkörper, die nach KOSENOW und PFEIFFER (64, 66) Anzahl der X-Chromosomen minus 1 beträgt, zwar möglich, jedoch nur gewährleistet, wenn das isozyklische X-Chromosom nicht dupliziert ist, d.h. in der Einzahl vorhanden und das heterozyklische X-Chromosom in der Überzahl. Ein vollständiger polyploider Chromosomen-

satz enthält zu jedem Autosomensatz nur ein heteropyknotisches X-Chromosom, z.B. bei der Tetraploidie 88 Autosomen, 2 isozyklische und 2 heterozyklische X-Chromosomen und somit nur 2 Barr'sche Kernkörperchen. Dagegen würde der Verlust eines heteropyknotischen X-Chromosoms die Anzahl der Kernkörperchen vermindern bzw. eine Zelle zu einer Barr-negativen Zelle werden lassen (5o, 114, 115). Vollständiger Verlust des isopyknotischen X-Chromosoms und Reduplikation des heteropyknotischen in einem aneuploiden Chromosomensatz würde jedoch die Zahl der Barr'schen Chromatinkörper erhöhen, eventuell sogar auf die Anzahl der X-Chromosomen (5o). "Weiter ist daran zu denken, daß in Tumoren auch Autosomen heterozyklisch werden können und dann Chromatinkörperchen bilden können" (115). In diesem Falle wären also die Barr'schen Zellkernkörper nicht geschlechtschromosomaler sondern autosomaler Herkunft.

Daraus resultiert zwangsläufig die große Schwierigkeit, die Methode der zellkernmorphologischen Geschlechtserkennung auf dem Gebiet der Geschwulstforschung anzuwenden. "Obwohl andere Faktoren von Bedeutung sein können, scheint es wahrscheinlich, daß die Abweichungen des Sexchromatins vom Normalen in Tumoren ihren Grund in den Abweichungen des Chromosomenstatus der Tumorzellen finden. Menschliche bösartige Tumoren sind gewöhnlich, wenn nicht prinzipiell aneuploid. Sie haben Veränderungen ihres Karyotyps durchgemacht, wobei Verlust oder Gewinn von ganzen Chromosomen oder auch Chromosomenteilen aufgetreten ist. Daher ist es fraglich, ob überhaupt von "männlichen" und "weiblichen" Tumoren gesprochen werden kann, zumal die Anzahl von Chromatinkörperchen in verschiedenen Bereichen eines Tumors erheblich schwanken kann" (3). Einige Autoren (117, 118) halten es für wahrscheinlich, daß Barr-negative Befunde durch Verlust eines X-Chromosoms zustande kommen und eine gewisse Art von Entdifferenzierung, zumindest hin-

sichtlich des Gonosomensatzes, bedeutet. Nach GROPP, WOLF und PERA (44, 45) scheint es wenig wahrscheinlich, daß sich zwei definitive Typen von Mammacarcinomen unterscheiden lassen. REGELE (1o3) schlägt vor, grundsätzlich von "chromatin-negativen" und "chromatin-positiven" Befunden zu sprechen, womit dann lediglich das zkm Bild gekennzeichnet ist.

V. ZELLKERNMORPHOLOGISCHES GESCHLECHT UND HORMONTHERAPIE

Es ist auffallend, daß beim Mammacarcinom der Frau in einem großen Teil der Fälle chromatin-negative Befunde erhoben werden, und zwar in einem Ausmaß, das bisher von keinem anderen Tumorgewebe der Frau bekannt ist. Nach EHLERS und HIENZ (32, 33, 34, 36, 5o, 53) sind dies etwa 1/3 aller untersuchten Fälle.

Beim Mammacarcinom der Frau ist weiter auffallend, daß erfahrungsgemäß etwa 1/3 aller Patientinnen nicht auf kontrasexuelle Hormontherapie anspricht bzw. sogar das Tumorwachstum beschleunigt und die Metastasierung gefördert wird (32, 33, 34, 35, 36, 51, 53, 76, 99, 1oo, 1o2, 1o3, 1o5).

Diese Feststellungen müssen die Frage aufkommen lassen, ob ein Zusammenhang besteht zwischen zkm Geschlecht des Mammacarcinoms und seiner Hormonbeeinflußbarkeit. Ist das zkm Geschlecht des Tumors bestimmend für den Erfolg oder Mißerfolg der Hormontherapie?

Viele bisher durchgeführte Untersuchungen scheinen für einen Zusammenhang zwischen Hormonabhängigkeit und zkm Geschlecht des Tumors zu sprechen. So soll ein Mammacarcinom, welches einen zkm Barr-positiven Befund zeigt, auf eine Therapie mit männlichen Hormonen einen günsti-

geren Verlauf nehmen als ein zkm Barr-negatives. Umgekehrt soll ein Barr-negatives Carcinom auf eine Therapie mit Androgenen einen ungünstigeren Verlauf zeigen (32, 33, 34, 35, 36, 4o, 76, 99, 1oo, 1o2, 1o3).

Es überwogen also die günstigeren Verlaufsformen mit langen Überlebenszeiten einerseits bei Patientinnen mit Barr-positivem Tumor, wenn diese mit Androgenen behandelt wurden, andererseits bei Patientinnen mit Barr-negativem Tumor, wenn Androgentherapie und Ovariektomie unterlassen wurden. Die Überlebenszeiten waren - im Vergleich zu nicht hormonbehandelten Patientinnen - verkürzt bei Frauen mit Barr-negativem Tumor, die nicht ovariektomiert und nicht mit Androgenen behandelt wurden, und bei Frauen mit Barr-positivem Tumor, bei denen die Ovariektomie ausgeführt und Androgene verabreicht wurden (4, 32, 33, 34, 35, 36, 51, 53, 54, 55, 59).

REGELE und VAGACS (1o5) bestimmten bei Patientinnen mit Mammacarcinomen die Androgen- und Östrogenausscheidung im Urin und gleichzeitig das zkm Geschlecht des Tumors. Dabei fand sich "eine anscheinende Übereinstimmung des zellkernmorphologischen Geschlechtes mit einer "männlichen" bzw. "weiblichen" Hormonbilanz in dem Sinne, daß bei den Patientinnen mit zellkernmorphologisch weiblichen Tumoren oft weit über die Norm überschießende Östrogenwerte gefunden wurden, denen eine überraschenderweise ebenfalls übernormale 17-Ketosteroidausscheidung in einigen Fällen parallel geht. Bei der zkm männlichen Gruppe konnte dagegen fast durchweg eine deutliche Verminderung der Follikelhormonausscheidung, in vielen Fällen eine Vermehrung der 17-Ketosteroide gemessen werden als Hinweis für eine reaktiv verstärkte Androgenproduktion" (1o5).

Eine eindeutige und regelmäßige Abhängigkeit des Therapieerfolges mit Hormonen vom zkm Geschlecht des Tumors

konnte jedoch bisher noch nicht in genügend vielen Fällen nachgewiesen werden (76, 1oo), so daß weitere Untersuchungen in dieser Fragestellung angezeigt erscheinen.

VI. FRAGESTELLUNG

Aufgabe dieser Arbeit ist, am eigenen Krankengut zu untersuchen:

1. Die Häufigkeit der BKK beim Mammacarcinom.
2. Beziehungen zwischen BKK und histologischem Carcinomtyp.
3. Beziehungen zwischen BKK und Alter der Patientinnen.
4. Beziehungen zwischen BKK und Stadium des Carcinomwachstums.
5. Beziehungen zwischen BKK und Dauer der Anamnese.

Diese Untersuchungen sollen Grundlage sein für eine spätere Überprüfung des klinischen Verlaufes bei den gleichen Patientinnen und besonders der Frage, ob eine eventuell notwendige und ausgeführte Hormontherapie eine Änderung des Krankheitsverlaufes gebracht hat, die mit dem zkm Befund in Übereinstimmung steht.

VII. MATERIAL und METHODIK

1. Herkunft und Aufteilung des Materials

Als Untersuchungsmaterial dienten histologische Schnitte von Mammacarcinom-Gewebe, das bei der Operation gewonnen wurde. Das Gewebe stammt zum größten Teil aus dem Primär-

tumor, in wenigen Fällen aus Lymphknoten- und Fernmetastasen.

Es wurden insgesamt 145 Präparate aus den Jahren 1958 bis 1963 untersucht. Die Zahl der Präparate setzt sich zusammen aus 1o1 histologischen Schnitten des pathologisch-anatomischen Institutes der Universität Marburg, dem routinemäßig alles Operationsmaterial der chirurgischen Universitätsklinik zur Untersuchung zugeht, und aus 44 eigenen Schnitten.

Verwertbar waren 79 Präparate, davon 78 Mammacarcinome von Frauen, eines von einem Mann.

Nicht verwertbar waren, besonders aus den früheren Jahren, alle Gefrierschnittpräparate, da diese grundsätzlich nur eine histologische Beurteilung des Carcinomtyps erlaubten, jedoch keine zkm Auszählung. Außerdem wurden alle Paraffinschnitte mit einer Dicke von mehr als 5 µ und alle überfärbten Präparate ausgesondert. Bei ihnen sind Einzelstrukturen der Zellkerne schlecht oder nicht mehr unterscheidbar.

Das Untersuchungsmaterial teilt sich wie folgt auf:

Tabelle 1

Gesamtzahl der Präparate	145
aus dem pathologisch-anatomischen Institut	1o1
aus der chirurgischen Universitätsklinik	44

Tabelle 2

Verwertbare Präparate

Gesamtzahl	79
aus dem pathologisch-anatomischen Institut	42
aus der chirurgischen Universitätsklinik	37

Tabelle 3

Verwertbare Präparate aufgeteilt nach Jahrgängen

Jahrgang	Gesamtzahl	aus dem path.-anat. Institut	aus der chirurg. Universitätsklinik
1955*	1	1	o
1957*	1	1	o
1959	5	5	o
196o	12	12	o
1961	17	17	o
1962	25	5	2o
1963	2o	3	17

* 2 Fälle von doppelseitigem Mammacarcinom, die gleichzeitig unter den Jahrgängen 196o und 1961 erfaßt und eingeordnet sind.

Von der Gesamtzahl der verwertbaren Präparate sind in 6 Fällen gleichzeitig Primärtumor und Lymphknotenmetastase erfaßt. In 3 Fällen konnte neben den Tumorzellen Lymphozyten ausgewertet werden, in einem Fall Hautmetastasen und Hautzellen.

Tabelle 4

Außer dem Tumorgewebe sind erfaßt:

Lymphknotenmetastase	6 Fälle
Lymphozyten	3 Fälle
Haut u. Hautmetastasen	1 Fall

2. Histologische Bearbeitung

a) für die Präparate aus der chirurgischen Klinik

a1) Gewebeentnahme und Fixierung

Die Gewebeentnahme erfolgte sofort oder wenige Stunden nach der Operation aus dem Operationspräparat, das in

einem Kühlschrank aufbewahrt wurde. Fixierung in 4 %-iger Formalinlösung. Die Einbettung erfolgte in einem Arbeitsgang mit anderen anfallenden Präparaten nach einer Zeitspanne von 1 1/2 bis 4 1/2 Monaten.

a2) Einbettung

Die Gewebestücke wurden nach der Fixierung in würfelige Blöckchen von etwa 5 mm Kantenlänge und 2 - 3 mm Höhe geschnitten und durchliefen folgende Reihe:

H_2O	24 Stunden
7o %-iger Alkohol	7 Stunden
96 %-iger Alkohol	2 Stunden
absoluter Alkohol	15 Stunden
Toluol I	1 Stunde
Toluol II	2 Stunden
Paraffin I	5 Stunden
Paraffin II	16 Stunden

Dann wurden diese Gewebestückchen in Paraffinblöcke eingegossen.

a3) Anfertigung der Objektträgerpräparate

Von den Paraffin-Gewebeblöcken wurden jeweils 2, selten 4 Schnitte mit einer Dicke von 5 µ angefertigt. Diese wurden mit Hilfe einer Präpariernadel aus dem Wasserbad aufgenommen und glatt auf einen dünn mit Eiweißglycerin beschickten Objektträger ausgebreitet.

a4) Färbung

Zur Entparaffinierung mußten die Präparate folgende Reihe durchlaufen:

Xylol I	5	Minuten
Xylol II	5	Minuten
abs. Alkohol	5	Minuten
96 %-iger Alkohol I	5	Minuten
96 %-iger Alkohol II	5	Minuten
7o %-iger Alkohol	5	Minuten
H_2O	5	Minuten
(bzw. Aqua dest. bei der Gallocyanin-Chromalaun-Färbung)		

Es wurde jeweils ein Präparat mit Hämatoxylin-Eosin, das andere mit Gallocyanin-Chromalaun gefärbt.

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Präparate durchliefen dabei folgende Reihe:

Hämatoxylin	5	Minuten
H_2O	5	Minuten
Eosin	2	Minuten
H_2O	5	Minuten
7o %-iger Alkohol	1	Minute
96 %-iger Alkohol	2	Minuten
abs. Alkohol I	3	Minuten
abs. Alkohol II	3	Minuten
Xylol I	3	Minuten
Xylol II	3	Minuten

Die Gallocyanin-Chromalaun-Färbung

Ansetzen der Lösung:
o,15 g Gallocyanin unter Schütteln in 1oo ccm 5 %-iger Chromalaunlösung bis zum vollständigen Auflösen kochen, nach Abkühlen auf Raumtemperatur filtrieren und durch den Filter mit Aqua dest. auf 1oo ccm auffüllen. Der pH-Wert dieser Lösung beträgt 1,64. Dieser pH-Wert ist zur elektiven Anfärbung der DNS des Zellkerns günstig.

Zwischen pH 1,1 und 2,9 werden nur DNS und RNS mit dieser Färbung erfaßt. Bei höheren pH-Werten nimmt die unspezifische Anfärbung im Zellkern zu (96, 1o8). Die Färbung der Präparate ist nach 24-stündigem Einstellen in die Gallocyanin-Chromalaunlösung beendet.

Die Präparate beider Färbungen wurden folgendermaßen ausgewaschen und entwässert:

H_2O	5 Minuten
7o %-iger Alkohol	1 Minute
96 %-iger Alkohol	2 Minuten
abs. Alkohol I	3 Minuten
abs. Alkohol II	3 Minuten
Xylol I	3 Minuten
Xylol II	3 Minuten

Alle Präparate wurden mit Caedax eingedeckt und mehrere Tage getrocknet.

b) für die Präparate aus dem pathologisch-anatomischen Institut

Sämtliche Präparate lagen geschnitten, gefärbt und eingedeckt vor. Es handelte sich um Paraffin- und um Gefrierschnitte. Verwertbar waren nur dünn geschnittene Paraffinschnitte, von denen jedoch nur eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung für unseren Zweck brauchbar war.

3. Mikroskopische Auswertung

Zur Einarbeitung in die Methode der Bestimmung und Auszählung der BKK wurden zunächst Präparate, die mit der Gallocyanin-Chromalaun-Lösung gefärbt waren, benutzt. Die Kernstrukturen erscheinen tiefblau und kontrastreich gegen ihre Umgebung. Die Kernkörperchen heben sich als stark basophile, scharf begrenzte, homogen erscheinende

Gebilde deutlich von den übrigen Kernstrukturen ab. In allen Fällen, in denen eine brauchbare Gallocyanin-Chromalaun-Färbung vorlag, wurde diese zur endgültigen Beurteilung benutzt.

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung macht die Auszählung der BKK erst nach einiger Übung möglich, da diese weniger kontrastreich erscheinen. Sie erweist sich aber nach Einarbeitung als durchaus brauchbar.

In allen Präparaten wurde mit dem Lichtmikroskop bei 1200-facher Vergrößerung mit der Ölimmersion der Gehalt an BKK ausgezählt. Zuvor wurde mit kleinerer Vergrößerung eine Tumorstelle, die gut erhaltenes Gewebe erkennen ließ, für die Auszählung ausgewählt und eingestellt. In einem Präparat wurden jeweils 200 bis 500 Zellen ausgezählt. In den meisten Fällen war das Ergebnis nach Beurteilung von 200 Zellen klar. Im Zweifelsfalle, besonders bei chromatin-negativen Kernen, wurden in einer zweiten, selten dritten Zählung bis zu 1000 Zellen beurteilt.

Es zählten nur die charakteristischen Formen der BKK, wie sie bei BOHLE und HIENZ (19) angegeben sind. Makro-, Mikro-, Dreiecks- und Längsformen, soweit mit dem Lichtmikroskop unterscheidbar, wurden nicht berücksichtigt, um Fehlermöglichkeiten durch Verwechslung mit anderen Kernstrukturen möglichst auszuschließen. Zellen mit mehreren BKK wurden einfach gezählt.

4. Schwierigkeiten bei der Beurteilung der Präparate

Nach der ersten Durchsicht auf unbrauchbare Präparate mußten bei der späteren eingehenden Suche nach BKK erneut einige Präparate ausgesondert werden. Es war in diesen Fällen nicht möglich, die Anzahl der BKK fest-

zulegen, obwohl gerade diese als "unklar" bezeichneten Befunde wiederholt im Abstand von mehreren Tagen bis Wochen nachgeprüft wurden.

Die Gründe, das Auszählungsergebnis eines Tumorgewebes als "unklar" zu bezeichnen, waren:

a) Zu intensive Anfärbung der Zellkerne läßt die BKK nicht eindeutig als solche erkennen.

b) In den Tumorzellen liegen reichlich Chromatinbröckel, die eine leichte Verwechslungsmöglichkeit mit BKK bieten.

c) Die Tumorzellen erscheinen granuliert oder blasig aufgetrieben, so daß eine exakte Befundung unmöglich wird.

Auch die Fälle, in deren die Anzahl der BKK festgelegt werden konnte, bleiber einer subjektiven Beurteilung unterworfen. Es war vielfach, trotz möglichst strenger Maßstäbe, sehr schwierig, ein Zellkerngebilde eindeutig als BKK zu bezeichnen. Auch bei den schließlich eingeordneten Präparaten blieben oft Zweifel.

VIII. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

1. Häufigkeit der BKK bei Mammacarcinomen

Es wurden 79 Präparate von Mammacarcinomen ausgezählt. Davon waren 78 Präparate aus Mammacarcinomen von Frauen, 1 Präparat aus einem Mammacarcinom eines Mannes.

Von diesen 79 Präparaten waren 66 Präparate endgültig verwertbar. Das jeweils letzte Auszählungsergebnis gilt als verbindlich. Diese Ergebnisse werden in Tabellen und Abbildungen angeführt.

Die verwertbaren Präparate konnten in zwei Gruppen eingeteilt werden, von denen die eine als Barr-positiv, die andere als Barr-negativ gilt (Abb. 1).

Die übrigen 13 Präparate wurden aus oben angeführten Gründen als "unklar" eingestuft. Es zeigte sich, da zunächst versucht wurde, alle Präparate zu verwerten, daß in jenen der festgestellte Gehalt an BKK bei verschiedenen Auszählungen erheblich differierte, während sich bei den verwertbaren Präparaten zwei Auszählungsergebnisse unwesentlich unterschieden.

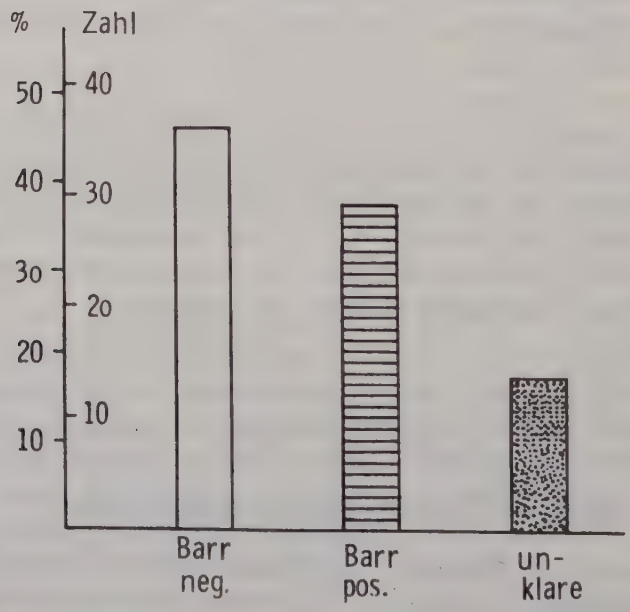

Abb. 1: Verteilung der Präparate auf Barr-positive, Barr-negative und unklare Fälle.

Abb. 2 zeigt die Anzahl der endgültig verwertbaren Präparate, aufgeteilt nach dem prozentualen Gehalt an BKK.

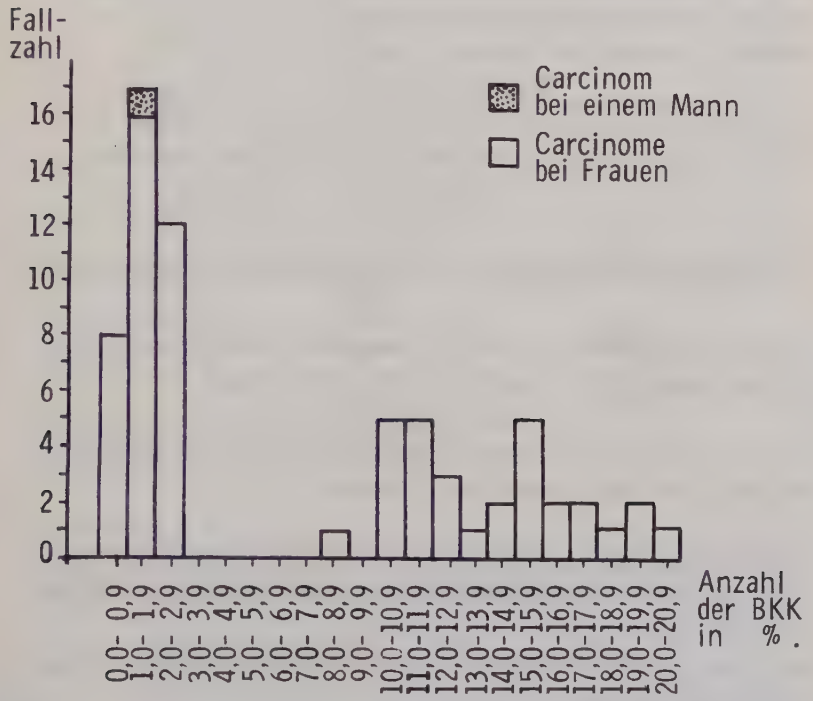

Abb. 2: Verteilung der Präparate nach dem prozentualen Gehalt an BKK.

Es ist auffallend, daß von 66 verwertbaren Präparaten von Frauen mit einem Mammacarcinom allein 36 Präparate, das sind 54,5 %, im chromatinarmen Bereich von 0,0 % bis 2,9 % BKK liegen. 29 Fälle, das sind 44,0 %, verteilen sich auf den Bereich zwischen 10,0 % und 20,9 % BKK. Der Bereich von 3,0 % bis 7,9 % BKK bleibt vollständig leer. Von 3,0 % bis 9,9 % BKK findet sich nur ein Fall.

Für unsere Auszählungsergebnisse gilt der Bereich von 0,0 % BKK bis 2,9 % BKK als Barr-negativ, von 1o,o % BKK bis 2o,9 % BKK als Barr-positiv.

Da das Präparat mit dem Befund 8,2 % BKK zu keiner dieser Gruppen einzuordnen ist, soll es zu den "unklaren" Ergebnissen gezählt werden.

Das Mammacarcinom des männlichen Patienten zeigt einen Gehalt von 1,o % BKK und ist somit Barr-negativ.

2. Häufigkeit der BKK und histologischer Carcinomtyp

Von den insgesamt 29 solid wachsenden Carcinomen waren 12 Barr-positiv, 13 Barr-negativ, 4 unklar.

Von den 23 scirrhös wachsenden Carcinomen waren 7 Barr-positiv, 12 Barr-negativ, 4 unklar.

Von den 11 teils solid, teils scirrhös wachsenden Carcinomen waren 5 Barr-positiv, 4 Barr-negativ, 2 unklar.

Von den 6 Adeno-Carcinomen waren 1 Barr-positiv, 4 Barr-negativ, 1 unklar.

Von den 9 intracanaliculär wachsenden Carcinomen waren 4 Barr-positiv, 3 Barr-negativ, 2 unklar.

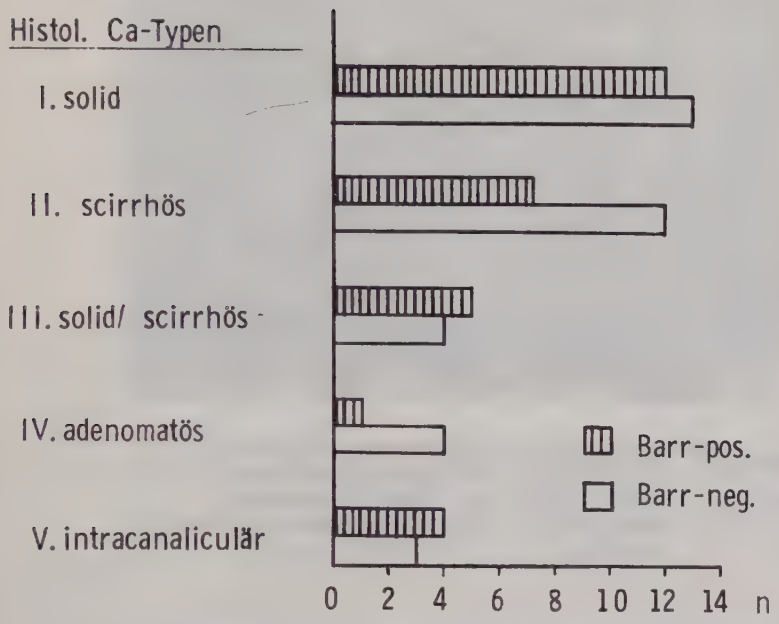

Abb. 3: Verteilung der Präparate nach ihrem histologischen Carcinomtyp.

Es ist zu erwähnen, daß bei den scirrhösen und adenomatösen Carcinomen die Barr-negativen überwiegen. Von den soliden, den teils solid, teils scirrhösen und den intracanaliculären Carcinomen entfallen annähernd gleich viele auf die Barr-positiven und die Barr-negativen Fälle. Eine statistische Auswertung erschien bei der geringen Zahl der Fälle in den einzelnen Gruppen wenig sinnvoll.

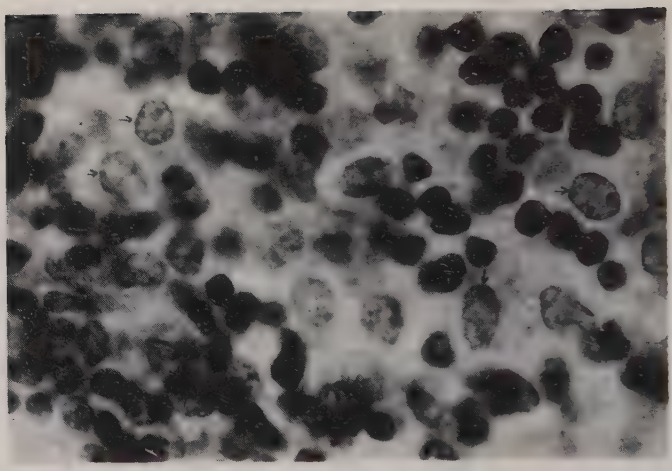

Abb. 4: Chromatinpositives Mammacarcinom. Die Barr'schen Kernkörper liegen der Innenseite der Kernmembran an. Präp.Nr. L 15o/63, Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

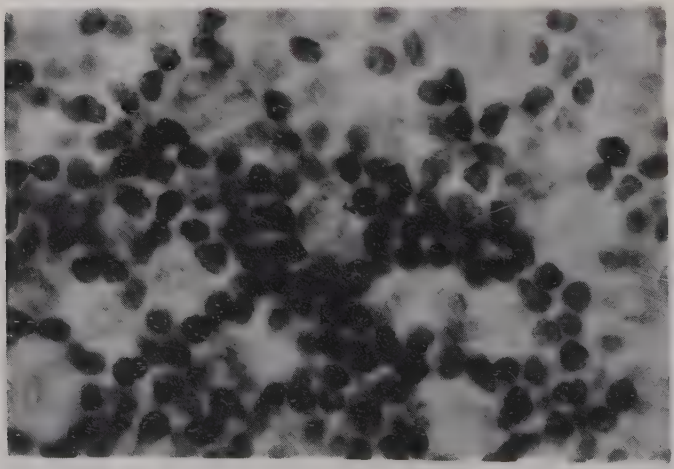

Abb. 5: Chromatinpositives Mammacarcinom. Präp.Nr. L 15o/63, Gallocyanin-Chromalaun-Färbung.

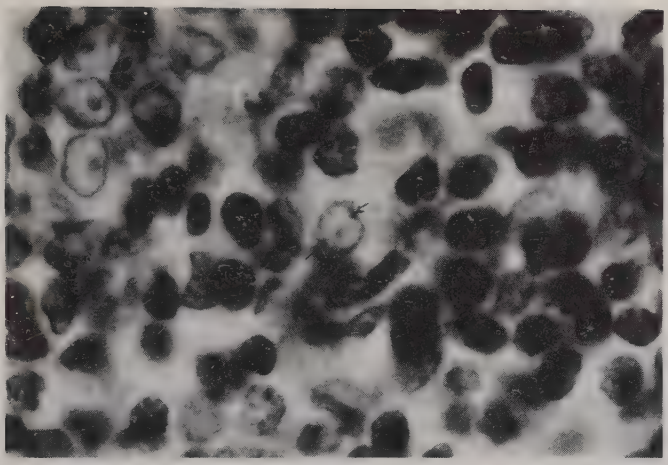

Abb. 6: Chromatinpositives Mammacarcinom. In einem Zellkern zwei Barr'sche Chromatinkörper, der Kern membran innen anliegend. Präp.Nr. 151/63, Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

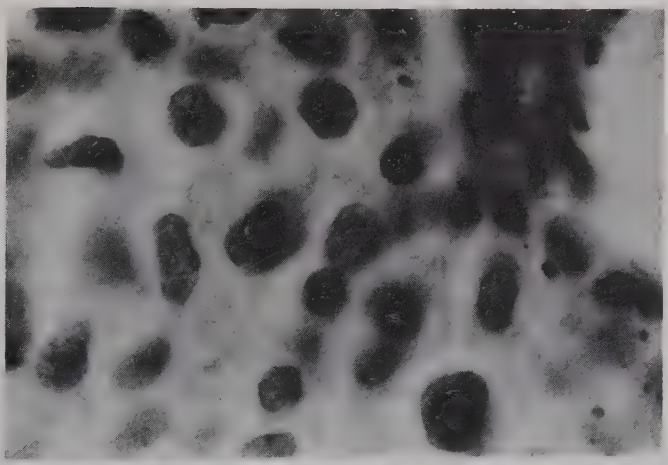

Abb. 7: Chromatinnegatives Mammacarcinom. Präp.Nr. L 149/63, Gallocyanin-Chromalaun-Färbung.

3. BKK und Alter der Patientinnen

Die untersuchten Patientinnen teilen wir in 2 Altersgruppen ein und setzen das 55. Lebensjahr als Ende des Klimakteriums fest.

Die Verteilung der Barr-positiven und Barr-negativen Mammacarcinome auf beide Altersgruppen ergibt folgende Tabelle:

Tabelle 5

Alter der Patientinnen	Barr-positiv	Barr-negativ	gesamt
29 - 54 Jahre	8 Präparate	2o Präparate	28 Präparate
55 - 9o Jahre	21 Präparate	16 Präparate	37 Präparate

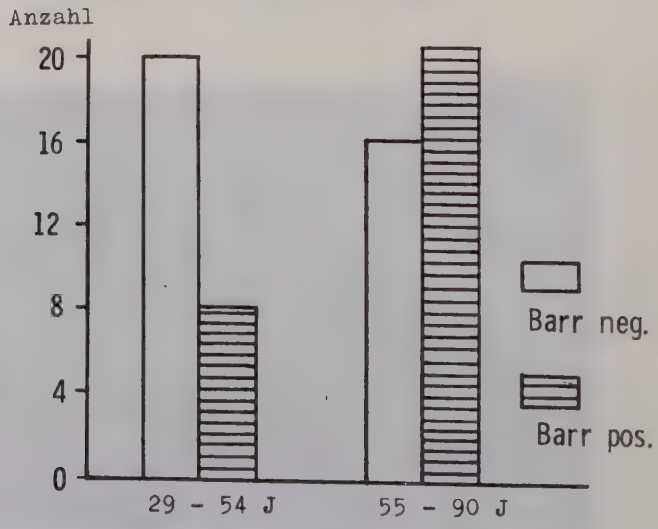

Abb. 8: Verteilung auf Barr-positive und Barr-negative Carcinome in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen.

Es ist auffallend, daß in der Altersgruppe von 29 bis 54 Jahren die Barr-negativen Carcinome weitaus häufiger vertreten sind als die Barr-positiven, während in der zweiten Altersgruppe über 54 Jahre das Verhältnis umgekehrt ist. Dieser Unterschied in beiden Altersgruppen ist hinsichtlich des Barr-Befundes statistisch signifikant.

4. BKK und Stadium des Carcinomwachstums

Die Verteilung der Präparate auf Barr-positive und Barr-negative Carcinome in Abhängigkeit vom Stadium des Carcinomwachstums bei der ersten klinischen Behandlung der Patientinnen zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6

Stadium des Carcinomwachstums	Barr-positiv	Barr-negativ	gesamt
Steinthal I	7	4	11
Steinthal II	15	27	42
Steinthal III	7	5	12

Im Stadium Steinthal I und Steinthal III überwiegt der Anteil an Barr-positiven Carcinomen, im Stadium Steinthal II der Anteil an Barr-negativen Carcinomen. Jedoch ist der Zusammenhang zwischen Stadium des Carcinomwachstums und Barr-positivem bzw. Barr-negativem Zellbild statistisch nicht beweisbar, zumal das Zahlenmaterial relativ klein ist.

5. BKK und Dauer der Anamnese

Die Tabelle 7 zeigt, daß deutlich mehr Barr-negative als Barr-positive Befunde auf die Patientinnen entfallen, deren

Anamnese weniger als 2 Monate betrug. Bei einer längeren Dauer der Anamnese sind Barr-positive und Barr-negative Befunde gleich häufig vertreten. Dies mag jedoch am kleinen Zahlenmaterial der einzelnen Gruppen ein Zufallsbefund sein.

Tabelle 7

Anamnese in Monaten	Barr-pos.	Barr-neg.	gesamt
unter 2 Monaten	7	14	21
2 bis 5 Monate	11	11	22
6 bis 12 Monate	7	7	14
mehr als 12 Monate	3	3	6
unbekannt	1	1	2

6. Vergleich zwischen Primärtumor und Metastase

In 6 Fällen war ein Vergleich zwischen Primärtumor und Lymphknotenmetastase möglich, in einem Fall zwischen Primärtumor und Hautmetastase. Es wurden folgende Auszählungsergebnisse erhoben:

Tabelle 8

Präparat Nr.	im Primärtumor	in Lymphknotenmetastase
J 213/60	2,5 % BKK	1,4 % BKK
J 3135/61	10,5 % BKK	10,0 % BKK
L 410/62	0,5 % BKK	1,0 % BKK
L 211/212/63	19,2 % BKK	17,7 % BKK
L 494/495/63	15,0 % BKK	12,7 % BKK
	im Primärtumor	in Hautmetastase
J 6092/59	13,5 % BKK	5,0 % BKK

Tabelle 8 zeigt, daß in 5 Fällen, in denen sowohl Primärtumor als auch Lymphknotenmetastase beurteilt werden

konnten, der Gehalt an BKK in Primärtumor und Lymphknotenmetastase um maximal 2,3 % BKK voneinander abweicht. In allen Fällen konnten Primärtumor und Lymphknotenmetastase jeweils der gleichen Gruppe - Barr-positiv oder Barr-negativ - zugeordnet werden.

Die Hautmetastase zeigt einen deutlich niedrigeren Wert als der zugehörige Primärtumor.

7. Vergleich zwischen Tumorgewebe und normalem Gewebe

In 4 Fällen wurde neben dem Tumorgewebe normales Gewebe mitgezählt. Die folgende Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse:

Tabelle 9

Präparat Nr.	Tumorgewebe	normales Gewebe
J 6092/59	13,5 % BKK im Primärtumor	
	5,0 % BKK in Hautmetastase	13,0 % BKK in der Haut
J 213/60	2,5 % BKK in Lymphknotenmetastase	14,7 % BKK in Lymphozyten
J 276/62	1,25 % BKK in Lymphknotenmetastase	21,5 % BKK in Lymphozyten
L 317/62	2,7 % BKK in Lymphknotenmetastase	16,0 % BKK in Lymphozyten

Während im ersten Fall das Tumorgewebe zu der Barr-positiven, in den drei anderen Fällen zu der Barr-negativen Gruppe gehört, zeigen sowohl normale Haut als auch Lymphozyten einen hohen Gehalt an BKK, der einem Barr-positiven Befund entspricht.

8. BKK bei 2 Fällen von Mammacarcinomen in der Schwangerschaft

In zwei untersuchten Fällen von Mammacarcinomen, die in der Schwangerschaft operiert wurden, zeigte einer ein Barr-positives Bild mit 11,0 % BKK, der andere ein Barr-negatives Bild mit 2,0 % BKK.

9. Zusammenstellung aller untersuchten Fälle

Eine Übersicht aller untersuchten Fälle gibt folgende Tabelle. Dabei wurde bei einer Dauer der Anamnese unter 3 Jahren diese in Monaten (M), bei einer Dauer der Anamnese über 3 Jahre diese in Jahren (J) angegeben.

Tabelle 1o

Lfd Nr.	Krankenblatt Nr.	Präparat Nr.	Alter	Anamnese		Histolog. Ca.Typ	Stein-thal-Stadium	BKK in %
1	59/1o57	59/J1892	71 J	3	M	solid	I	2,8
2	1252	J335o	6o J	1/4	M	adenomatös	II	18,o
3	2233	J4744	63 J	1 1/2	M	solid	I	15,o
4	3462	J6o92	5o J	2	M	solid	III	unklar
5	4589	6o/J1595	59 J	4	M	solid	I	12,o
6	6o/367	J2381	51 J	12	M	intracanaliculär	III	15,o
7	373	J213	49 J	1/4	M	solid	II	2,5
8	541	J3o58	54 J	12	M	solid	III	2,3
9	1o23	J3368	48 J	3	M	scirrhös	II	2,o
1o	1341	J39o2	55 J	1	M	solid	II	16,o
11	1344	J3876	57 J	2	M	scirrhös	I	13,o
12	re. 6o/1814 li. 55/14o8	6o/J4581 55/J38o6	59 J	5	J	solid/scirrhös solid	I ? II ?	unklar
13	6o/1826	6o/J4551	63 J	4	M	intracanaliculär	II	11,6
14	2994	J1o38	74 J	1	M	solid	II	unklar
15	3o13	J6129	51 J	2	M	scirrhös	II	o,o
16	3167	J6411	61 J	2	M	solid	II	unklar
17	3199	J6441	66 J	1	M	solid	II	1,4
18	61/231	61/J4o7	51 J	5	M	scirrhös	II	1,6
19	483	J719	46 J	3	M	intracanaliculär	III	o,8
2o	564	J97o	6o J	5	M	solid	II	1,8
21	1297	J1988	48 J	1	M	intracanaliculär	III	8,2
22	13o7	J2o29	52 J	3o	M	solid	II	o,4
23	2o38	J3o82	47 J	1	M	intracanaliculär	II	1,5
24	2o63	J3135	35 J	1	M	solid/scirrhös	II	11,o (Gravid.m.VII)
25	2128	J33o1	57 J	6	M	solid	III	1o,2
26	292o	J4359	54 J	12	M	solid/scirrhös	III	12,2
27	3413	J5o41	73 J	3	M	scirrhös	II	unklar
28	3441	J5o98	44 J	6	M	solid/scirrhös	II	o,8
29	3667	J5346	65 J	1	M	solid	II	2,5
3o	3678	5345	41 J	1 1/4	M	adenomatös	II	1,4
31	38o5	J5525	59 J	1	M	scirrhös	II	o,3
32	4132	J59o8	61 J	1	M	scirrhös	II	1,7
33	41o8	J5935	65 J	1/4	M			

Lfd. Nr.	Krankenblatt Nr.	Präparat Nr.	Alter	Anamnese		Histolog. Ca.Typ	Stein-thal-Stadium	BKK in %
34	li. 61/4454 re. 57/4393	61/J6268 58/J1495	57 J	4	J	solid solid/scirrhös	II ? II ?	unklar unklar
35	62/269	62/J276	6o J	6	M	solid	I	1,25
36	298	L69	55 J	3	J	scirrhös	II	2o,3
37	358	L68	53 J	2	M	solid	I	15,o
38	517	L114	61 J	3	M	solid	III	1,5
39	656	L119	54 J	6	M	solid	II	o,6
4o	677	L123	68 J	1/4	M	scirrhös	II	17,25
41	9o1	L16o	59 J	6	M	scirrhös	III	unklar
42	1643	J218o	75 J	2	M	solid	II	1o,o
43	167o	J2167	56 J	1	M	scirrhös	II	2,7
44	1677	L317	59 J	3	M	scirrhös	II	unklar
45	1718	L322	39 J	4	M	scirrhös	II	12,o
46	1724	L321	61 J	12	M	solid	III	14,5
47	1869	L4o7	79 J	2	M	scirrhös	II	19,o
48	1934	L4o8	32 J	2	M	intracanaliculär	II	1,o
49	2o28	J2744	72 J	2	M	scirrhös	II	2,3
5o	211o	J2829	65 J	2	M	scirrhös	I	11,3
51	24o2	L444	9o J	1	M	scirrhös	II	1,6
52	2483	J3328	6o J	1	M	solid	II	1o,o
53	27o6	L445	65 J	9	M	solid/scirrhös	II	1,4
54	2925	L458	65 J	18	M	intracanaliculär	III	11,6
55	3156	L48o	56 J	unbekannt		solid	II	1o,5
56	3581	L41o	66 J	1	M	scirrhös	I	1,o männl.Patient
57	39o6	L324	46 J	5	M	solid	II	1,5
58	4159	L658	43 J	6	M	solid	II	17,o
59	4263	L749	62 J	12	J	solid (bds)	III	16,25
6o	4529	63/L147	62 J	18	M	adenomatös	III	2,2
61	4574	L148	36 J	5	J	solid	II	2,o (Gravid.m.VI)
62	4679	L151	64 J	1	M	solid/scirrhös	II	14,2
63	63/81	L15o	29 J	5	M	intracanaliculär	I	15,2
64	549	J66o	66 J	1/4	M	adenomatös	II	unklar
65	582	J718	6o J	8	J	solid	III	unklar
66	748	L152	57 J	12	M	intracanaliculär	III	unklar
67	1125	L211	62 J	12	M	scirrhös	I	17,4
68	1272	L213	63 J	6	M	adenomatös	II	1,2
69	1798	L221	41 J	1/4	M	solid/scirrhös	I	1,2
7o	2oo6	J25o1	64 J	1/2	M	solid	I	1,o
71	2729	L483	43 J	12	M	solid/scirrhös	III	1,o
72	3o45	J3875	43 J	1/2	M	scirrhös	II	2,o
73	38o1	L492	61 J	3	M	solid/scirrhös	II	11,25
74	392o	L485	63 J	4	M	scirrhös	II	2,o doppelseitg.Ca.
75	3995	L491	41 J	1 1/4	M	scirrhös	II	2,o
76	4o4o	L49o	54 J	1	M	scirrhös	II	o,o
77	416o	L494	44 J	5	M	solid/scirrhös	II	12,7
78	4681	L149	52 J	unbekannt		adenomatös	II	o,5

IX. STATISTIK

A. Bearbeitung von Tabelle 6

Tabelle 6

Stadium des Carcinomwachst.	Barr-pos.	Barr-neg.	gesamt
Steinthal I	7	4	11
Steinthal II	15	27	42
Steinthal III	7	5	12

1. Fragestellung:

Besteht zwischen dem Stadium des Carcinomwachstums einerseits und der Häufigkeit von Barr-positiven und Barr-negativen Mammacarcinomen andererseits ein Zusammenhang?

2. Wahl der statistischen Methode mit Begründung:

Als statistisches Verfahren wurde der χ^2-Test gewählt als nicht parametrisches Verfahren, da die Verteilung der Grundgesamtheit nicht bekannt ist und die beiden Merkmale - Stadium des Carcinomwachstums und Barr-positives bzw. Barr-negatives Zellbild - auf ihre Unabhängigkeit bzw. ihre Abhängigkeit geprüft werden sollen. Da ferner die Kriterien

Stichprobenumfang ($n \geq 30$)
Erwartungswert in der Kombination ($i,j \geq 5$)

erfüllt sind (eine einzige Abweichung um 0,1 für den Tabellenwert $n_{11} = 4,9$ ist zu vernachlässigen), sei damit die Wahl der statistischen Methode begründet.

3. Formulierung der 0-Hypothese:

Als H_o wird unterstellt, daß zwischen den Merkmalen Stadium des Carcinomwachstums und Barr-positivem bzw. Barr-negativem Zellbild kein Zusammenhang besteht, d.h. diese beiden Merkmale voneinander unabhängig sind.

4. Durchführung des Verfahrens:

Die Irrtumswahrscheinlichkeit sei mit $\alpha = 0{,}05$ festgelegt. Im Falle einer Unabhängigkeit der Merkmale (falls das Ergebnis zur Annahme der 0-Hypothese führt) verteilt sich bei einer 3x2 Felder-Kontingenztabelle die Testgröße nach χ^2 mit (3-1).(2-1) (2 Freiheitsgrade).

Das Prüfmaß (95 % - Grenze) für diese Verteilung ergibt

$$\chi^2_{2;0,95} = 5{,}99.$$

Wenn die Testgröße $\sum_{i=1}^{l} \sum_{i=1}^{m} \frac{(nij-npij)^2}{npij} = 5{,}99$

wird H_o verworfen, andernfalls kann H_o nicht abgelehnt werden.

Gegeben sind zwei Merkmale mit verschiedenen Ausprägungen (Barr-positiv, Barr-negativ). Bei jedem Stichprobenelement wird festgestellt, in welcher Ausprägung jedes der beiden Merkmale (Barr-positiv, Barr-negativ) vorliegt. nij sei die Anzahl jener Stichprobenelemente, bei denen das erste Merkmal in der i-Ausprägung, das zweite Merkmal in der j-Ausprägung vorliegt. Das Ergebnis der Stichprobe läßt sich übersichtlich in der sog. Kontingenztafel darstellen:

3x2 Felder-Kontingenztabelle

B \ A	Barr-pos.	Barr-neg.	
I	n_{11}	n_{12}	$n_{1\cdot}$
II	n_{21}	n_{22}	$n_{2\cdot}$
III	n_{31}	n_{32}	$n_{3\cdot}$
$\sum$	n.1	n.2	n..

B \ A	Barr-pos.	Barr-neg.	
I	7	4	11
II	15	27	42
III	7	5	12
$\sum$	29	36	65

Arbeitstabelle

nij	npij	nij-npij	$(nij-npij)^2$	$\frac{(nij-npij)^2}{npij}$
7	4,9	2,1	4,41	o,9
4	6,1	-2,1	4,41	o,72
15	19,2	-4,2	17,64	o,91
27	23,3	3,7	13,69	o,5
7	5,35	1,65	2,72	o,51
5	6,6	-1,6	2,56	o,39
				3,93

Für die Testgröße ergibt sich also 3,93.
Da 3,93 nicht 5,99, kann aufgrund des Stichprobenbefundes die 0-Hypothese nicht verworfen werden.

5. Interpretation des Ergebnisses:

Aufgrund der vorliegenden Stichprobe kann die Hypothese "es bestehe kein Zusammenhang zwischen dem Stadium des Carcinomwachstums einerseits und einem Barr-positiven bzw. Barr-negativen Zellbild andererseits" nicht widerlegt werden, d.h. man kann aufgrund des Stichprobenbefundes das Gegenteil der Hypothese nicht beweisen.

B. Bearbeitung von Tabelle 7

Tabelle 7

	Anamnese in Mon.	Barr-pos.	Barr-neg.	gesamt
I	unter 2	7	14	21
II	2 - 5	11	11	22
III	6 - 12	7	7	14
IV	mehr als 12	3	3	6

1. Fragestellung:

Besteht zwischen der Dauer der Anamnese einerseits und der Häufigkeit von Barr-positiven bzw. Barr-negativen Mammacarcinomen andererseits ein Zusammenhang, da zahlenmäßig deutlich mehr Barr-negative Carcinome auf Patientinnen entfallen, deren Anamnese weniger als 2 Monate betrug?

2. Wahl der Methode:

χ^2-Test auf Unabhängigkeit. Begründung wie oben. Der Test sei versuchsweise durchgeführt, obwohl das Kriterium $npij > 5$ für zwei Tabellenwerte nicht zutrifft (s. Arbeitstabelle).

3. Formulierung der 0-Hypothese:

Als H_o wird unterstellt: "Es bestehe kein Zusammenhang zwischen "Dauer der Anamnese" und "Barr-positivem bzw. Barr-negativem Zellbild"."

4. Durchführung des Verfahrens:

$\alpha = 0{,}05$

Bei einer 4x2 Felder-Kontingenztabelle verteilt sich die Testgröße nach χ^2 (l-1) (n-1) = χ^2 mit 3 Freiheitsgraden.

Das Prüfmaß für diese Verteilung ergibt:

$$\chi^2_{3;0,95} = 7{,}81$$

Wenn die Testgröße $\sum_{i=1}^{l}\sum_{i=1}^{m} \frac{(nij-npij)^2}{npij} > 7{,}81$,

so wird H_o verworfen, andernfalls kann aufgrund des Stichprobenbefundes H_o nicht widerlegt werden.

4x2 Felder-Kontingenztabelle

Dauer der Anamnese	Barr-pos.	Barr-neg.		
I	7 n_{11}	14 n_{12}	$n_{1\cdot}$	21
II	11 n_{21}	11 n_{22}	$n_{2\cdot}$	22
III	7 n_{31}	7 n_{32}	$n_{3\cdot}$	14
IV	3 n_{41}	3 n_{42}	$n_{4\cdot}$	6
Σ	28 n.1	35 n.2	n..	63

Arbeitstabelle

nij	npij	nij-npij	$(nij-npij)^2$	$\frac{(nij-npij)^2}{npij}$
7	9,33	-2,33	5,429	o,58
14	11,67	2,33	5,429	o,46
11	9,46	1,54	2,371	o,25
11	12,22	-1,22	1,468	o,12
7	6,38	-o,62	o,384	o,o6
7	7,77	-o,77	o,593	o,o7
3	2,66	o,54	o,792	o,3o
3	o,3	2,7	7,29	24,3
Testgröße				26,14

Prüfmaß: $\chi^{2}_{(l-1)\,(m-1)} = \chi^{2}_{3.1}$

$= \chi^{2}_{3}$

$= 7{,}81$

5. Interpretation des Ergebnisses:

Da für Testgröße und Prüfmaß die Beziehung gilt $26{,}14 > 7{,}81$, kann aufgrund der vorliegenden Stichprobe die Hypothese: "Es bestehe kein Zusammenhang zwischen den beiden Merkmalen" nicht bewiesen werden, ein Zusammenhang kann sinnvollerweise unterstellt werden.

Dies ist gleichbedeutend mit der Formulierung: Das Testergebnis ist signifikant.
Da jedoch das Kriterium des Erwartungswertes für 2 Tabellenwerte nicht erfüllt ist, bleibt die Anwendung des Testes und somit das Ergebnis fraglich.

C. Bearbeitung von Tabelle 5

Tabelle 5

	Alter der Pat.	Barr-pos.	Barr-neg.
I	23 - 54 Jahre	8	2o
II	55 - 9o Jahre	21	16

1. Fragestellung:

Besteht zwischen dem Alter der Patientinnen und einem Barr-positiven bzw. Barr-negativen Zellbild ein Zusammenhang?

2. Wahl der statistischen Methode:

χ^2-Test auf Unabhängigkeit. Begründung wie oben.

3. Formulierung der 0-Hypothese:

Als H_o wird unterstellt, es bestehe kein Zusammenhang zwischen den beiden Merkmalen "Alter der Patientinnen" und "Barr-positivem bzw. Barr-negativem Zellbild".

4. Durchführung des Verfahrens:

2x2 Felder-Kontingenztabelle

Alter der Patientinnen	Barr-pos.	Barr-neg.	
I	8 n_{11}	2o n_{12}	28 $n_{1\cdot}$
II	21 n_{21}	16 n_{22}	37 $n_{2\cdot}$
Σ	29 $n_{\cdot 1}$	36 $n_{\cdot 2}$	65 $n_{\cdot\cdot}$

Arbeitstabelle

nij	npij	nij-npij	$(nij-npij)^2$	$\frac{(nij-npij)^2}{npij}$
8	12,5	-4,5	2o,25	1,62
2o	15,5	4,5	2o,25	1,31
21	16,5	4,5	2o,25	1,22
16	22	-6	36,o	1,63
Testgröße:				5,78

Prüfmaß: $\chi^2 (1-1) (m-1) = \chi^2_{1.1}$

$= \chi^2_{1;o,95}$

$= 3,84$

Es gilt die Beziehung: $5,78 > 3,84$.

5. Interpretation des Ergebnisses:

Nach der Testvorschrift für den χ^2-Test muß deshalb die Hypothese: "Es bestehe kein Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientinnen einerseits und einem Barr-positiven bzw. Barr-negativen Zellbild andererseits" verworfen werden. D.h. aufgrund des Stichprobenbefundes kann die Behauptung "die Altergruppe steht in einem wesentlichen Zusammenhang mit dem Barr'schen Zellbefund" nicht widerlegt werden bzw. der Unterschied zwischen I und II hinsichtlich der Barr'schen Zellbefunde ist signifikant. Es kann also ein Zusammenhang zwischen Alter der Patientinnen und Barr'schem Zellbefund unterstellt werden.

X. DISKUSSION

In den letzten Jahren sind exogene Krebsnoxen in zunehmendem Maße bekannt geworden, über endogene wissen wir bisher wenig (1, 11o). Auf die Hormone fällt dabei immer wieder der Verdacht der Mitwirkung bei der Krebsentstehung (13). Wenn sie auch nicht allein als mögliche endogene Krebsnoxen gelten, spielen sie doch eine besondere Rolle bei der Krebsentstehung in den normalerweise hormonell gesteuerten Organen. Sie werden dabei nicht als direkt carcinogene Stoffe, vielmehr als bedingt carcinogene aufgefaßt. Entstehung und Wachstum der malignen Tumoren können sie nur fördern und begünstigen, nicht ohne Mitwirkung anderer Faktoren auslösen (3o).

Eine hormonelle Beeinflussung gilt in erster Linie für das Mamma- und Prostatacarcinom. Beim Prostatacarcinom reagiert ein hoher Prozentsatz aller Patienten günstig auf gegengeschlechtliche Hormontherapie (13, 53, 56, 124). Dagegen gibt es beim Brustkrebs der Frau ein sehr unterschiedliches Verhalten. "Bei der Behandlung des Mammacarcinoms mit gegengeschlechtlichen Hormonen ist es eine seit langem bekannte Erfahrungstatsache, daß manche Patientinnen hierauf gut ansprechen, d.h. die Metastasen zur Rückbildung oder sogar zum völligen Verschwinden gebracht werden können, während bei anderen damit kein Therapieerfolg oder sogar eine Propagierung des Metastasenwachstums erzielt wird." (34, 51) Klinische Erfolge und auch ausgesprochene Mißerfolge in der Hormontherapie des Mammacarcinoms bestätigen immer wieder seine Hormonbeeinflußbarkeit (3, 14, 21, 22, 25, 34, 36, 39, 48, 51, 52, 53, 55, 56, 59, 6o, 61, 7o, 71, 76, 78, 83, 85, 92, 93, 97, 98, 1o2, 1o3, 1o5, 111, 124, 125, 126). Diese wird gleichfalls wahrscheinlich gemacht durch das Auftreten eines Mammacarcinoms in nur 1o % bei kastrierten Frauen im Vergleich zu nicht kastrierten (13, 31).

Ob das Mammacarcinom junger Frauen, deren Ovarien voll funktionstüchtig sind, unter dem Einfluß östrogener Substanzen steht, die der weibliche Organismus produziert, ist umstritten (127). Jedoch scheinen Östrogene einerseits und Androgene andererseits bei einer bestimmten Gruppe von Tumorträgerinnen begünstigend und mitbestimmend für das Tumorwachstum zu sein.

Die besondere Bösartigkeit des Mammacarcinoms während Schwangerschaft und Stillzeit soll z.T. bedingt sein durch die höhere Hormonproduktion in dieser Zeit. (Daneben wird die schlechtere Prognose dieses Carcinoms in Schwangerschaft und Stillzeit noch begünstigt durch vermehrte Vascularisation der Brustdrüse und damit erleichterte Metastasierung. Zudem kann die Diagnose verzögert werden durch die Schwellung der Brustdrüse vor und während der Laktation, die das Durchtasten kleinerer Tumoren nur schwer oder gar nicht ermöglicht (7o, 78, 85).)

Seit der Entdeckung der Barr'schen Kernkörperchen (BKK) weiß man, daß ihre prozentuale Verteilung charakteristisch ist für ein weibliches bzw. männliches Zellkerngeschlecht. Bei gesunden Individuen ist dies gleichbedeutend mit dem phänotypischen Geschlecht. Bei der Untersuchung maligner Tumoren auf BKK stieß man überraschenderweise beim Mammacarcinom der Frau ebenfalls auf unterschiedliche prozentuale Verteilung der BKK. Man sprach von zellkernmorphologisch "weiblichen" und "männlichen" Mammacarcinomen (34, 51, 52, 99, 1oo).

Diese Feststellung veranlaßte zu der Vermutung, daß Mißerfolge in der Hormontherapie möglicherweise in Zusammenhang ständen mit einem gegengeschlechtlichen Verhalten des Tumors zu seinem Tumorträger. Dieser praktisch bedeutsamen Frage ist vielfach nachgegangen worden (18, 32, 34, 35, 51, 52, 53, 99, 1oo, 1o2, 1o3, 1o4), ohne daß letztlich eine endgültige Klärung dieser Frage oder

eine weitgehende Übereinstimmung der verschiedenen Untersuchungsergebnisse erzielt wurde.

Aufgrund der Literaturangaben und der eigenen Ergebnisse soll insbesondere nochmals zu folgenden Fragen Stellung genommen werden:

1. Häufigkeit der Barr-positiven und Barr-negativen Mammacarcinome bei Frauen.
2. Gibt es eine sichere Abgrenzung zwischen Barr-positiven und Barr-negativen Befunden bei Mammacarcinomen?
3. Wie verhält sich Primärtumor zu Lymphknotenmetastase?
4. Alter der Patientinnen und BKK.
5. Morphologie des Tumorbildes, Stadium des Carcinomwachstums und BKK.
6. Bedeutung der BKK für die klinische Therapie.

1. Häufigkeit der Barr-positiven und Barr-negativen Mammacarcinome bei Frauen

Von einigen Autoren wird die Häufigkeit der Barr-negativen Befunde mit etwa 3o % (4, 18, 5o, 51, 52, 53, 61, 82, 99, 1oo, 1o3, 1o4, 1o5, 124), von anderen mit etwa 5o % angegeben (16, 55, 76, 1o2). Wieder andere Untersucher halten es für wenig wahrscheinlich, daß sich überhaupt zwei Typen von Mammacarcinomen nach dem zkm Geschlecht unterscheiden lassen (3, 43, 44, 45, 57, 58).

Im eigenen Untersuchungsmaterial waren bei 78 Mammacarcinomen von Frauen die BKK wie folgt verteilt:

a) 36 Präparate (46,1 %) lagen im Bereich von o,o % BKK bis 2,9 % BKK.

b) 29 Präparate (37,2 %) lagen im Bereich von 1o,o % bis 2o,o % BKK.

c) Im Intervall zwischen 3,o % und 1o,o % BKK konnte nur ein Präparat mit 8,2 % BKK eingeordnet werden.

d) 13 Präparate blieben unklar. Bei diesen waren die BKK teils aus technischen Mängeln des Präparates, teils wegen stark veränderter Zellkernstrukturen nicht eindeutig identifizierbar. Diese Präparate zeigten eine Streuung von o,7 % bis 24,o % BKK.

Diese Ergebnisse bestätigen die Feststellung vieler Autoren, die eine Einteilung in Barr-negative und Barr-positive Mammacarcinome gerechtfertigt halten (3, 34, 5o, 51, 52, 53, 59, 61, 99, 1oo, 1o2, 1o3, 1o4, 1o5, 124).

2. Grenze zwischen Barr-positiven und Barr-negativen Befunden

In normalem menschlichem Gewebe schwankt die prozentuale Anzahl der BKK zwischen o,o % und 18,o % bei männlichen, zwischen 14,o % und fast 1oo % bei weiblichen Individuen (11, 12, 19, 49, 5o, 51, 52, 53, 79, 81, 82, 86, 87, 9o, 1o7). Dabei zeigt sich, daß in einem bestimmten Gewebe Überschneidungen zwischen den ermittelten Werten bei weiblichen und männlichen Individuen nicht vorkommen. Es bleibt vielmehr ein klares Intervall, das eine eindeutige Differenzierung zuläßt. Jedes Gewebe zeigt seinen spezifischen Bereich mit fast konstanten Werten (5o).

Diese klaren Verhältnisse liegen jedoch nur bei normalem Gewebe und bei gutartigen Tumoren vor. Bei bösartigen Tumoren ist nicht nur die Identifizierung der BKK erschwert, sondern es können auch Überschneidungen vorkommen (18, 5o). HIENZ gibt für die Mammacarcinome eine Grenze an, die für

Barr-positive Tumoren zwischen 17,o % und 3o,o % BKK und für Barr-negative Tumoren zwischen o,o % und 2,5 % BKK liegt (5o, 51). REGELE gibt entsprechende Zahlen an von weniger als 1o,o % und mehr als 2o,o % BKK (1o3, 1o5).

Da die Beurteilung der BKK in Carcinomgewebe oft schwierig ist, eine exakte Differenzierung oft sogar unmöglich werden kann (5o, 1o6), liegen die Prozentzahlen im allgemeinen niedriger als in normalem Gewebe, insbesondere, da fragliche Chromatinkörperchen bei der Zählung ausgeschlossen werden müssen. Die Zahlen werden um so niedriger sein, je kritischer die Beurteilung ist. Im Einzelfalle muß sich jeder Untersucher seine eigene Grenze zwischen Barr-positiven und Barr-negativen Tumoren festlegen (1o3).

Wir selbst haben aufgrund der Auszählungsergebnisse die Grenze folgendermaßen festgesetzt:

Barr-positive Mammacarcinome: 1o,o % bis 2o,o % BKK
Barr-negative Mammacarcinome: o,o % bis 2,9 % BKK.

Vergleiche mehrerer Auszählungen am gleichen technisch guten Präparat veränderten die Grenze und Verteilung unwesentlich. Mehr als die Hälfte aller doppelt ausgezählten Präparate zeigten Abweichungen von nicht mehr als 2,o % BKK. Von den Fällen, bei denen die Abweichung mehr als 3,5 % BKK betrug, mußte der größte Teil als nicht verwertbar ausgesondert werden, und zwar aus folgenden Gründen:

a) Zu intensive Anfärbung des Zellkerns läßt die BKK nicht eindeutig als solche erkennen.

b) In den Tumorzellen liegen reichlich Chromatinbröckel, die eine leichte Verwechslungsmöglichkeit mit BKK bieten.

c) Die Tumorzellen erscheinen granuliert oder blasig aufgetrieben, so daß eine exakte Befundung unmöglich wird.

Diese Gründe müssen notgedrungen zu großen Differenzen verschiedener Auszählungsergebnisse führen. Die Gründe für die wechselnden Ergebnisse bei mehreren Auszählungen an technisch guten Präparaten mögen einmal in der größeren Routine des Untersuchers nach Einarbeitung in die Methode liegen, zum anderen an der rein biologischen Streuung. Zudem gibt es Autoren, die feststellten, daß der Anteil an BKK in verschiedenen Bereichen eines Tumors erheblich schwanken kann (3, 44, 57, 58), insbesondere in den Randpartien um Nekrosen und bei Zerfall. Es ist durchaus möglich, daß bei mehreren Zählungen nicht der gleiche Tumorbereich betrachtet wurde. Eine andere Möglichkeit ergibt sich, wenn der Tumor aus verschieden aufgebauten Gewebspartien besteht. Wir selbst stellten in einem solchen Fall fest, daß der solid wachsende Anteil eines Tumors einen Chromatingehalt von 1o,5 %, bei der zweiten Zählung von 24,o % aufwies, der scirrhös wachsende Anteil einen Chromatingehalt von 2,o % bzw. 8,o %.

3. Primärtumor und Lymphknotenmetastasen

BACIC (4) sowie HOCHBERG und Mitarb. (54) stellten fest, daß die BKK-Befunde in Primärtumor und Lymphknotenmetastasen übereinstimmten. LORBECK (76) wie auch REGELE und Mitarb. (1o2) lehnen dies ab. Wenn nach KALLENBERGER (57, 58) "Mosaiktumoren" anzunehmen sind, die verschieden hohen Gehalt an BKK aufweisen, so kann es auch Lymphknotenmetastasen geben, die den einen oder anderen Anteil des Mosaiks tragen. Vielleicht gibt es auch unter den Zellen unterschiedliche Tendenz zur Metastasierung. KIMEL (61) fand, daß Barr-positive Tumoren eher metastasieren als Barr-negative.

Im eigenen Untersuchungsmaterial liegen nur 5 verwertbare Vergleichspräparate vor. In diesen Fällen konnte stets Primärtumor und Lymphknotenmetastase zur gleichen

Gruppe eingeordnet werden. Die Abweichungen zwischen Primärtumor und Lymphknotenmetastase betrugen maximal 2,3 % BKK.

4. Alter der Patientinnen und BKK

Wenn man annehmen will, daß das Mammacarcinom hormonell beeinflußbar ist und ein Zusammenhang mit dem zkm Geschlecht besteht, müßte man bei jungen Frauen eher ein Barr-positives Tumorbild, bei älteren eher ein Barr-negatives vermuten.

Untersuchungen von REGELE (1oo) scheinen diese Vermutung zu bestätigen. Er stellte fest, "daß zkm-weibliche Mammacarcinome in der hormonaktiven Altersgruppe unter 4o Jahren viel häufiger vorkommen als in der hormoninaktiven Altersgruppe von 6o Jahren aufwärts. GROPP (45) und Mitarb. sowie KIMEL (61) dagegen fanden keinen Zusammenhang zwischen Alter der Patientinnen und Häufigkeit der BKK.

Im eigenen Untersuchungsmaterial überwiegen in der Altersgruppe bis zu 54 Jahren die Barr-negativen Tumoren mit statistischer Signifikanz. Jedoch ist die Fallzahl gering und besitzt daher wenig Aussagekraft. In der Altersgruppe über 54 Jahre ist die Verteilung weniger deutlich unterschieden.

5. Morphologie des Tumorbildes, Stadium des Carcinomwachstums und BKK

Eine Übereinstimmung zwischen Morphologie des Tumors und Anzahl der BKK beim Mammacarcinom konnten verschiedene Untersucher nicht feststellen. Es zeigten sowohl die entdifferenzierten wie die ausdifferenzierten Carcinome

eine unterschiedliche Häufigkeit an BKK (18, 1oo). ATKIN (3) fand bei Cervix- und Corpuscarcinomen ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen Differenzierungsgrad und Anzahl der BKK des Tumors.

Vergleicht man im eigenen Untersuchungsmaterial die Anzahl der BKK mit den histologischen Carcinomtypen, so fällt auf, daß in scirrhösen Carcinomen der Anteil der Barr-negativen Befunde überwiegt. Bei den scirrhösen Mammacarcinomen war es am schwierigsten, das zkm Geschlecht zu bestimmen. Es erscheint möglich, daß gerade bei diesem Carcinomtyp leichter BKK übersehen wurden, so daß Barr-negative Einstufungen eventuell durch methodische Schwierigkeiten erhöht werden können.

In der Literatur fanden wir keine Angaben über Verteilung der Barr-negativen und Barr-positiven Carcinome in Abhängigkeit vom Stadium des Carcinomwachstums. Es konnte bisher nicht festgestellt werden, welcher der beiden Carcinomtypen eine grundsätzlich schlechtere Prognose mit schnellerer Metastasierung aufweist (18). BOHLE und Mitarb. (18) fanden, daß im Stadium Steinthal I und II etwas mehr Patientinnen mit Barr-negativen als mit Barr-positiven Tumoren 5 Jahre überlebten, wenn sie ohne Hormonbehandlung blieben.

In unserem Material fanden sich im Stadium Steinthal II mehr Barr-negative, im Stadium Steinthal I und III relativ mehr Barr-positive Mammacarcinome. Die relative Anzahl der unklaren Befunde nahm von Stadium Steinthal I bis III zu. Dieses Ergebnis ließ sich statistisch nicht sichern.

Das Ergebnis könnte darauf beruhen, daß mit zunehmendem Metastasierungsgrad die Zellverbände mitosenreicher werden. Da die BKK aber nur in der Phase des Ruhekerns sicher erkannt werden können, sind sie in mitosenreichem Tumorgewebe schwieriger zu beurteilen.

6. Bedeutung der BKK für die klinische Therapie

Wenn einerseits BKK in einem bösartigen Tumorgewebe schwer identifizierbar sind, mit anderen Zellkernstrukturen verwechselt, übersehen oder fälschlich als solche angesehen werden können, andererseits durch Chromosomenabnormitäten sowohl vervielfacht als auch verloren, sowohl chromosomaler wie autosomaler Herkunft sein können, haben sie dann überhaupt eine Bedeutung?

Es scheint erwiesen, daß der BKK in einer normalen menschlichen Zelle vom heterozyklischen X-Chromosom gebildet wird (114, 115, 117). Mit steigender Chromosomenzahl einer Tumorzelle kann aber der BKK verloren oder auch vervielfacht werden (3, 45, 115). Man neigt dazu, die BKK aufgrund aller möglichen Variationen bei einer menschlichen Tumorzelle nicht als klar zu definierendes Kriterium und somit als bestimmenden Faktor bei der Hormontherapie ansehen zu wollen.

Dennoch lassen praktische Erfahrungen in der Hormontherapie eine gewisse Beziehung zwischen Anzahl der BKK und Hormonbeeinflußbarkeit des Tumors möglich erscheinen. Es wurden von einer ganzen Anzahl Autoren epikritische Untersuchungen durchgeführt (4, 18, 32, 33, 34, 35, 36, 4o, 41, 5o, 51, 53, 54, 55, 59, 76, 99, 1oo, 1o2, 1o3, 1o4), die einen oft signifikanten Unterschied in der Erfolgsquote bei hormonbehandelten Patientinnen mit Mammacarcinom zeigen:

Patientinnen mit Barr-positivem Tumor, die mit Androgenen behandelt wurden bzw. ovariektomiert waren, zeigten einen wesentlich günstigeren Krankheitsverlauf als Patientinnen mit Barr-negativem Tumor, die gleichermaßen behandelt wurden. Andererseits zeigten die Fälle mit Barr-negativen Mammacarcinomen eine höhere Überlebenszeit, wenn die Androgentherapie als auch die Ovariektomie unterlassen wurde.

Die von REGELE und VAGACS (1o5) durchgeführte Hormonuntersuchungen und gleichzeitige Bestimmung des zkm Geschlechts des Tumors ergaben eine anscheinende Übereinstimmung des zkm Geschlechts mit einer "männlichen" bzw. "weiblichen" Hormonbilanz. Demnach könne das zkm Geschlecht Ausdruck einer gleichsinnigen Störung des Hormongleichgewichtes sein (1o5). Die Autoren lassen jedoch die Möglichkeit offen, daß ein höherer Grad autonomen Wachstums gleichzeitig verbunden sei mit dem Verlust der Hormonabhängigkeit vom Muttergewebe und somit möglicherweise gleichzeitig einhergehe mit dem Verlust der BKK (1o3).

Das bisher in der Literatur gesammelte Erfahrungsmaterial ist zu gering, um eindeutige therapeutische Schlüsse zuzulassen. Uns erscheint deshalb die Applikation von Androgenen bzw. Östrogenen bei Patientinnen mit metastasierendem Mammacarcinom ausschließlich aufgrund des zkm Befundes in den Carcinomen noch nicht gerechtfertigt.

Um der gezielten Hormontherapie eine gewisse Sicherheit zu geben, wird vielfach gefordert, möglichst zahlreiche Untersuchungen auszuführen, die statistisch signifikante Aussagen ermöglichen. Hier sehen wir auch die Bedeutung unserer Ergebnisse an einem relativ kleinen Material.

XI. ZUSAMMENFASSUNG

Die zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung ist eine 1949 von BARR und Mitarb. angegebene Methode, die aufgrund morphologischer Verschiedenheiten der Zellkerne eine Aussage über das Geschlecht eines Individuums erlaubt. Die Methode soll bei jeder Gewebsart anwendbar sein, auch bei malignen Tumoren, allerdings mit größeren Schwierigkeiten bei der Beurteilung.

Beim Mammacarcinom der Frau wurde wiederholt eine Diskrepanz zwischen zellkernmorphologischem Geschlecht des Tumors und des Tumorträgers beschrieben. Man vermutete einen Zusammenhang zwischen zkm Geschlecht des Carcinoms und dem unterschiedlichen Ansprechen der Patientinnen auf Androgenbehandlung.

In dieser Arbeit wurde an eigenem Krankengut überprüft, ob sich zwei Typen von Mammacarcinomen nach dem zkm Geschlecht unterscheiden lassen und diese eine Beziehung haben zum histologischen Carcinomtyp, dem Alter der Patientinnen, dem Stadium des Carcinomwachstums und der Dauer der Anamnese.

Es wurden histologische Schnitte von 79 Mammacarcinomen auf ihren Gehalt an BKK überprüft. Material und Methodik werden im einzelnen erläutert.

Es fand sich in 37,2 % ein Barr-positiver, in 46,1 % ein Barr-negativer Tumor. Bei 16,7 % der Präparate war das Auszählungsergebnis nicht eindeutig, die Präparate wurden als "unklar" eingeordnet. Diese Ergebnisse stimmen - evtl. nur auf Grund des kleinen Zahlenmaterials - nicht überein mit den Untersuchungen von HIENZ, der aus der Literatur 2665 Fälle von Mammacarcinomen zusammengestellt hat. Dabei waren 6o,5 % Barr-positiv, 28,85 % Barr-negativ und 1o,65 % unklar.

Eigene Untersuchungen zeigen jedenfalls, daß es zwei Gruppen von Mammacarcinomen gibt und die Barr-negativen in hohem Prozentsatz vertreten sind. Eine Abhängigkeit zwischen BKK und histologischem Carcinomtyp sowie dem Stadium des Carcinomwachstums konnte nicht eindeutig festgestellt werden, während sich zwischen BKK und Alter der Patientinnen sowie der Dauer der Anamnese ein Zusammenhang zeigte.

Diese Untersuchungen sollen Grundlage sein für katamnestische Überprüfungen am gleichen Krankengut, die eventuell einen Zusammenhang zwischen Hormontherapie und zkm Befund aufweisen.

XII. LITERATURVERZEICHNIS

1 ALTMAN, F.A.:

The Origin of the First Cancer Cell
Arch. Geschw. Forsch., 19, 1, (1962)

2 ASHLEY, D.J.B.:

Occurence of the sex chromatin in the cells of the blood and bone marrow in Man.
Nature (London), 179, 969, (1957)

3 ATKIN, N.B.:

Die chromosomale Basis von Sexchromatinabweichungen in menschlichen Tumoren.
Wien. klin. Wschr. 76, 859, (1964)

4 BACIC, A.:

Erfahrungen zum Problem des Sexchromatins.
Wien. klin. Wschr. 76, 873, (1964)

5 BACLESSE, F.:

Five-Year Results in 431 Breast Cancers Treated Solely by Roentgen Rays.
Annals of Surgery, 1, 1o3, (1965)

6 BARR, M.L.:

The morphology of neuroglia nuclei in the cat, according to sex.
Exp. Cell Res., 2, 288, (1951)

7 BARR, M.L.:

Sexing Skin.
Lancet, I, 779, (1954)

8 BARR, M.L.:

Morphology of epidermal nuclei in hermaphrodites.
Anat. Rec., 118, 28o, (1954)

9 BARR, M.L.:

An interim note on the application of the skin biopsy test of chromosomal sex to Hermaphrodites.
Surg. Gynec. Obstetr., 99, 184, (1954)

1o BARR, M.L.:

The skin biopsy test of chromosomal sex in clinical practice.
Anat. Rec., 121, 387, (1955)

11 BARR, M.L. a. E.G. BERTRAM:

A Morphological Distinction between Neurones of the Male and Female, and the Behaviour of the Nucleolar Satellite during Accelerated Nucleoprotein Synthesis.
Nature (London), 163, 676, (1949)

12 BARR, M.L., L.F. BERTRAM a. H.A. LINDSAY:

The morphology of the nerve cell nucleus according to sex.
Anat. Rec., 1o7, 283, (195o)

13 BAUER, K.H.:

Hormone und Krebs.
Dtsch. med. Wschr., 78, 1525, (1953)

14 BAUER, K.H.:

Die chirurgische Behandlung des vorgeschrittenen Mammakarzinoms im Stadium ausgedehnter Metastasierung.
Krebsarzt, 14, 5o8, (1959)

15 BLÜMEL, G., G. TURCIC, H. REGELE u. H. VAGACS:

Zur Frage des Geschlechtsdimorphismus der Tumorzellen bei Mammacarcinomen. II. Teil: Örtliches Rezidiv und zellkernmorphologisches Geschlecht.
Wien. klin. Wschr., 75, 41, (1963)

16 BOESEN, E., E.J. SMITH u. D.N. BARON:

Further experiences with hypophysectomy in advanced breast cancer.
Brit. med. J., II, 79o (1961)

17 BOGASCH, U., H. KÄSBAUER u. H. KÜNLEN:

Erfahrungen mit der Radiogoldspickung der Hypophyse bei metastasierenden Neo-Plasmen unter besonderer Berücksichtigung des Mammakarzinoms.
Münch. med. Wschr., 3, 147, (1961)

18 BOHLE, A., E. BÜRGER, H. FISCHBACH u. A. SCHÖLL:

Die Bedeutung der Barrschen Körperchen beim Mammacarcinom.
Langenbeck's Arch. klin. Chir., 313, 392, (1965)

19 BOHLE, A. u. H.A. HIENZ:

Zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung an der Plazenta.
Klin. Wschr. 34, 981, (1956)

2o BRUNNER, A. und Mitarb.:

Lehrbuch der Chirurgie.
Benno Schwab u. Co. Verlag, Basel, Band II (195o)

21 BULBROOK, R.D., J.L. HAYWARD, C.C. SPICER u. B.S. THOMAS:

A Comparison between the Urinary Steroid Excretion of Normal Woman and Woman with Advanced Breast Cancer.
Lancet, II, 1235, (1962)

22 BULBROOK, R.D., J.L. HAYWARD, C.C. SPICER u. B.S. THOMAS:

Abnormal excretion of urinary steroids by woman with early breast cancer.
Lancet, II, 1238 (1962)

23 CABELL, R.:

Geschlechtschromatin in malignen Tumoren des Magen-Darm-, Nieren-Blasen-, weiblichen Genitaltraktes und der Mamma.
Inauguraldissertation, Marburg (1967)

24 CARPENTIER, P.J., L.A.M. SOLTE u. G.P. VISSCHERS:

Determination of genetic sex by the vaginal smear.
J. clin. Endocrinol., 16, 155, (1956)

25 CHELI, C.:

Esperience cliniche net trattamento della metastase del carcinoma della mamella con un derivato enolico del diidrotestosterone (Klinische Erfahrungen bei der Behandlung von Mammakarzinommetastasen mit einem Enolderivat des Dihydrotestosterons).
Minerva med. (Torino), 53, 1591, (1962)

26 DAVIDSON, W.M. u. R.D. SMITH:

A Morphological sex difference in the polymorphnuclear neutrophil leucocytes.
Brit. med. J., 2, 6, (1954)

27 DE JONG, K. u. K.H. VAN DE WEYER:

Ergebnisse der Behandlung des Mammakarzinoms.
Dtsch. med. Wschr., 87, 19o, (1962)

28 DIHLMANN, W.:

Überblick über Stand und Technik der zellkernmorphologischen Geschlechtserkennung.
Ärztl. Laborat., 3, 119, (1957)

29 DOMANIG, E.:

Zur Vor- und Nachbestrahlung des Mammacarcinoms.
Krebsarzt, 18, 393, (1963)

3o DONTENWILL, W.:

Krebs und Hormone.
Hippokrates, 36, 89, (1965)

31 DRIESEN, W.:

Über die Behandlung des Mammacarcinoms durch Exstirpation der Hypophyse.
Schweiz. med. Wschr., 85, 249, (1955)

32 EHLERS, P.N.:

Über die Unterscheidung des Mammacarcinoms nach dem zellkernmorphologischen Geschlecht.
Langenbeck's Arch. klin. Chir., 259, 94o, (196o)

33 EHLERS, P.N.:

Diagnose und Prognose des Mammakarzinoms.
Zentralbl. f. Gyn., 84, 1991, (1962)

34 EHLERS, P.N. u. H.A. HIENZ:

Zellkernmorphologisches Geschlecht und hormonelle Beeinflußbarkeit des Mamma-Carcinoms.
Langenbeck's Arch. klin. Chir., 288, 485, (1958)

35 EHLERS, P.N., H.A. HIENZ, C. HOCHBERG u. M. NURI:

Weitere Studien über die praktischen Konsequenzen der zellkernmorphologischen Untersuchungen des Mammacarcinoms.
Chirurg, 35, 271, (1964)

36 EHLERS, P.N., M. NURI u. C. HOCHBERG:

An der chirurgischen Universitätsklinik Heidelberg gesammelte Erfahrungen in der Behandlung des Mammacarcinoms unter besonderer Berücksichtigung des Sexchromatins.
Wien. klin. Wschr., 76, 87o, (1964)

37 ESKELUND, V.:

Determination of genetic sex by examination of epithelial cells in urine.
Acta endocrinol. scand., 23, 246, (1956)

38 FAIRGRIEVE, J.:

Selective criteria for surgical removal of the endocrine glands in advanced breast cancer.
Surg. gynec. and obstetr., 2, 371, (1965)

39 Forschungskomitee der American Medical Association:

Androgene und Östrogene in der Behandlung des disseminierten Mammacarcinoms.
J. Amer. Med. Ass., 172, 1271, (196o)

4o GLÄSER, A. u. R. REDING:

Die Bedeutung der zellkernmorphologischen Geschlechtsbestimmung für die Behandlung des Mammacarcinoms.
Brun's Beitr. klin. Chir., 2o9, 326, (1964)

41 GRASSBERGER, A. u. R. SEYSS:

Bisherige Erfahrungen mit hochdosierter präoperativer Bestrahlung von Mammakarzinomen.
Krebsarzt, 16, 195, (1961)

42 GRASSBERGER, A. u. R. SEYSS:

Zur Wirkung der präoperativen Röntgenbestrahlung auf die Lymphknoten beim Mammakarzinom.
Strahlentherapie, 118, 43o, (1962)

43 GROPP, H. u. U. WOLF:

Über den cytogenetischen Zusammenhang zwischen Sex-Chromatin und Chromosomenstatus beim Mammakarzinom.
Langenbeck's Arch. klin. Chir., 313, 4oo, (1965)

44 GROPP, H., U. WOLF u. F. PERA:

Untersuchungen über das Geschlechtschromatin und den zugrundeliegenden Chromosomenstatus beim Mammakarzinom.
Wien. klin. Wschr., 76, 863, (1964)

45 GROPP, H., U. WOLF u. F. PERA:

Sex-Chromatin und Chromosomenstatus beim Mammakarzinom.
Dtsch. med. Wschr., 9o, 637, (1965)

46 GROSS, F., W. MAHRINGER, H. TREBBIN u. A. BOHLE:

Zur Bedeutung der Barrschen Zellkernkörper beim Brustkrebs der Frau.
Dtsch. med. Wschr., 89, 1215, (1964)

47 HAMERTON, J. L.:

Sex Chromatin and Human Chromosomes.
Int. Rev. Cytol., 12, 1, (1961)

48 HELLSTÖM, J. u. C. FRANKSSON:

Nebennierenexstirpation bei metastasierendem Mammacarcinom.
Brun's Beitr. klin. Chir., 199, 117, (1959)

49 HIENZ, H.A.:

Zellkernmorphologische Geschlechtserkennung bei Säugetier und Mensch.
Dtsch. med. Wschr., 47, 1986, (1957)

5o HIENZ, H.A.:

Die zellkernmorphologische Geschlechtserkennung in Theorie und Praxis.
Verlag A. Hüthig, Heidelberg (1959)

51 HIENZ, H.A.:

Zur zellkernmorphologischen Geschlechtserkennung von Tumoren, speziell Mammakarzinomen.
Wien. klin. Wschr., 76, 862, (1964)

52 HIENZ, H.A.:

Die zellkernmorphologische Geschlechtserkennung an Tumoren.
Med. Welt, 5o, 28o3, (1965)

53 HIENZ, H.A.:

Das zellkernmorphologische Geschlecht von Mamma- und Prostata-Carcinomen.
Klin. Wschr., 35, 985, (1957)

54 HOCHBERG, C., M. NURI u. P.N. EHLERS:

Behandlung des Mammacarcinoms unter Berücksichtigung der Barr'schen Körperchen.
Langenbeck's Arch. klin. Chir., 313, 411, (1965)

55 HOHMANN, H.G. u. J. HERNANDEZ-RICHTER:

Zur Frage der Ovariektomie beim Mammacarcinom unter Berücksichtigung des zellkernmorphologischen Geschlechts.
Münch. med. Wschr., 1o5, 1464, (1963)

56 HUGGINS, C. u. Th. DAO:

Adrenalectomy and Oophrectomy in Treatment of Advanced Carcinoma of the Breast.
J. Amer. Med. Ass., 151, 1388, (1953)

57 KALLENBERGER, A.:

Die Beurteilung der Mammakarzinome nach dem Gehalt an Kernen mit Geschlechtschromatin und Heterochromatin.
Wien. klin. Wschr., 76, 873, (1964)

58 KALLENBERGER, A.:

Geschlechtschromatin bei Mammakarzinomen.
Schweiz. med. Wschr., 94, 1450, (1964)

59 KENK, B. u. V. BACIC:

Beiträge zum Studium des Kerngeschlechtes bei Mamma-Carcinomen.
Zbl.allgem.Path.u.path.Anat., 103, 501, (1962)

60 KENNEDY, B.J. a. J.E. FORTUNY:

Therapeutic Castration in the treatment of advanced breast cancer.
Cancer (Philad.), 17, 1197, (1964)

61 KIMEL, V.M.:

Clinical-cytological correlations of mammary-carcinoma based upon sex-chromatin counts.
Cancer (London), 10, 922, (1957)

62 KLINGER, H.P. a. K.S. LUDWIG:

An universal stain for sex chromatin body.
Stain Technol., 32, 235, (1957)

63 KOSENOW, W.:

Untersuchungen zur hämatologischen Geschlechts-bestimmung: Kernanhangsdifferenzierung im Leukocytenkonzentrat.
Ärztl. Wschr., 11, 320, (1956)

64 KOSENOW, W.:

Neue Ergebnisse der Chromosomenforschung und ihre Bedeutung für die klinische Pathologie.
Archiv Kinderheilkd., 162, 219, (1960)

65 KOSENOW, W. u. R.A. PFEIFFER:

Geschlechtsanomalien ohne Mißbildung des äußeren Genitale.
Med. Welt, 5, 462, (1962)

66 KOSENOW, W. u. R.A. PFEIFFER:

Technik und klinische Bedeutung der Chromosomen-analyse des Menschen.
Mschr. Kinderheilkd., 110, 1, (1962)

67 KOSENOW, W. u. H. SCHÖNENBERG:

Hämatologische Geschlechtsbestimmung bei Gonadenagenesie (Ullrich-Turner Syndrom).
Klin. Wschr., 34, 53, (1957)

68 KOSENOW, W. u. R. SCUPIN:

Die Bestimmung des Geschlechts mit Hilfe einer Kernanhangsformel der Leucocyten.
Acta haematol., 15, 349, (1956)

69 KOSENOW, W. u. R. SCUPIN:

Geschlechtsbestimmung auf Grund morphologischer Leucocytenmerkmale.
Klin. Wschr., 34, 51, (1956)

7o KRAHE, M.:

Die Therapie des Mammakarzinoms bei Gravidität
Ther. d. Gegenw., 1o1, 178, (1962)

71 KRAUSS, H.:

Eine neue intraoperative Hormon-Behandlung beim Mammacarcinom.
Klin. Med. Wien, 17, 49, (1962)

72 LEB, A.:

Die Ausweitung der Lokalbehandlung des Mammacarcinoms durch die präoperative Strahlentherapie.
Krebsarzt, 14, 5o4, (1959)

73 LEB, A.:

Die präoperative Röntgentherapie des Mammacarcinoms.
Klin. Med. Wien, 17, 28, (1962)

74 LENNOX, B.:

A ribonuclease-gallocyanin stain for sexing skin biopsies.
Stain Techn., 31, 167, (1956)

75 LINDSAY, H.A. a. BARR, M.L.:

Further observations on the behaviour of nuclear structures during depletion and restoration of nissl material.
J. Anat., 89, 47, (1955)

76 LORBECK, W.:

Gezielte Rezidivprophylaxe beim Mammacarcinom mit Hormonen.
Langenbeck's Arch. klin. Chir., 313, 4o8, (1965)

77 LYON, M.F.:

Sex chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome.
Amer. J. hum. Genet., 14, 135, (1962)

78 MACKEY, D.J. a. M. GARREY:

Pregnancy Following Carcinoma of the Breast.
Lancet, II, 72o, (1962)

79 MARBERGER, E. a. W.O. NELSON:

Sexual Differences in Nuclei of Human Skin.
J. Clin. Endocr., 14, 768, (1954)

8o MARBERGER, E. u. W.O. NELSON:

Geschlechtsbestimmung in der menschlichen Haut.
Brun's Beitr. klin. Chir., 19o, 1o3, (1955)

81 MARBERGER, E, R.A. BOCCABELLA a. W.O. NELSON:

Oral smear as a method of chromosomal sex detection.
Proc. Soc. exper. Biol., 89, 488, (1955)

82 MARZOLI, G.P. u. R. GRAF:

Über Probleme der Bestimmung der Barrschen Chromatinkörper in Karzinomen.
Krebsarzt, 16, 371, (1961)

83 MATZ, G.:

Der heutige Stand der Therapie des metastasierenden Mammacarcinoms.
Schweiz. med. Wschr., 9o, 1277, (196o)

84 McWIRTHER, R.:

Simple Mastectomy and Radiotherapy in Treatment of Breast Cancer.
Brit. J. Radiol., 28, 128, (1955)

85 MILLER, O.J.:

Sex determination: the sex chromosomes and the sex chromatin pattern.
Fertil. and Steril., 13, 93, (1962)

86 MOORE, K.L.:

The sex chromatin in the cells of human benign tumours.
Anat. Rec., 121, 4o9, (1955)

87 MOORE, K.L. a. M.L. BARR:

The sex chromatin in benign tumours and related conditions in man.
Brit. J. Cancer, 9, 246, (1955)

88 MOORE, K.L., M.A. GRAHAM a. M.L. BARR:

The detection of chromosomal sex in hermaphrodites from skin biopsy.
Surg. Gynec. Obstet., 96, 641, (1953)

89 MUNTEAU, E.:

Die präoperative Röntgenbestrahlung des Mammakarzinoms.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1961)

9o MYLLE, M. a. M.A. GRAHAM:

Sex chromatin in neurons of human frontal cortex and sympathetic ganglia.
Anat. Rec., 118, 4o2, (1954)

91 NACHBUR, B.:

Überblick über 215 Fälle von Mammacarcinom.
Schweiz. med. Wschr., 93, 584, (1963)

92 NELSEN, Th.S. u. L.R. DRAGSTEDT:

Die Adrenalektomie und Oophorektomie beim Brustkrebs.
J. Amer. Med. Ass., 175, 379, (1961)

93 NISSEN, R.:

Karzinomtherapie jenseits von Radikaloperation und Bestrahlung.
Dtsch. med. Wschr., 82, 1817, (1957)

94 OHNO, S. a. S. MAKINO:

The single-X nature of sex chromatin in man.
Lancet, I, 273, (1963)

95 OVERZIER, C.:

Über die Bedeutung und Beweiskraft der Kerngeschlechtsdiagnostik.
Klin. Wschr., 39, 557, (1961)

96 PEARSE, A.G.E.:

Histochemistry.
Little, Brown a. Co., London (196o)

97 PERSSON, B.H. a. L. RISHOLM:

Oophorectomy and cortisone treatment as a method of eliminating oestrogen production in patients with breast cancer.
Acta endocr., 47, 15, (1964)

98 PFEIFFER, J.:

Betrachtungen zur Hormonbehandlung des weiblichen Brustkrebses.
Therap. Gegenw., 98, 1, (1959)

99 REGELE, H.:

Zur Frage des Sexchromatins im Mammacarcinom.
Chirurg, 35, 316, (1964)

1oo REGELE, H.:

Das zellkernmorphologische Geschlecht im Mammacarcinom.
Klin. Med. Wien, 17, 8, (1962)

1o1 PFANZAGL, J.:

Allgemeine Methodenlehre der Statistik.
Göschen, Berlin, Bd. II, (1966)

1o2 REGELE, H., E. DOMANIG u. W. LORBECK:

Aktuelle Fragen in der Hormontherapie des Mammacarcinoms.
Chirurg, 34, 199, (1963)

1o3 REGELE, H., F. KAUFMANN, W. VERDERDERBER u. H. WASL:

Erfahrungen mit Sexchromatin und Hormontherapie beim Mammacarcinom.
Wien. klin. Wschr., 76, 871, (1964)

1o4 REGELE, H. u. Mitarb.:

Zur Problematik des Sexchromatins in Tumoren.
Wien. klin. Wschr., 75, 531, (1963)

1o5 REGELE, H. u. H. VAGACS:

Über die Hormonabhängigkeit maligner Mammatumoren.
Klin. Med., 7, 415, (1962)

1o6 RIVIÈRE, M.:

Sur la présence de la "chromatine sexuelle" dans les tumeurs humaines et en particulier dans les néoplasmes des glandes germinatives.
Bull. Ass. franc. cancer, 47, 37, (1956)

1o7 RODERMUND, O.E.:

Über das "Geschlechtschromatin" in Geschwülsten.
Zschr. Krebsforsch., 61, 259, (1956)

1o8 ROMEIS, B.:

Mikroskopische Technik.
R. Oldenbourg, München (1948)

1o9 SCHEER, K.E. u. E. KLAR:

Pituitary implantation with Au 198. A report of 5oo cases.
Nuclearmedizin, 2, 143, (1961)

11o SCHMIDT, F.:

Virus und Krebs des Menschen.
Krebsarzt, 18, 153, (1963)

111 SCHMIDT-ÜBERREITER, E.:

Die Hormontherapie des Mammakarzinoms.
Krebsarzt, 14, 5o9-515, (1959)

112 SCHMIDT-ÜBERREITER, E.:

Carcinoma mammae utriusque.
Beziehungen zwischen Ovarialfunktion,
Intervall und Überlebenszeit.
Dtsch.Zschr.Chir., 272, 359, (1952)

113 SCHNEDL, W.:

Untersuchungen über das Sexchromatin in
menschlichen Fibroblastenkulturen.
Acta anat., 57, 52, (1964)

114 SCHWARZACHER, H.G.:

Kernstruktur und Geschlechtschromatin mensch-
licher Zellen in vitro, im lebenden Zustand
und nach Fixierung.
Acta anat., 57, 91, (1964)

115 SCHWARZACHER, H.G.:

Sexchromatin und Chromosomen in normalen Ge-
weben des Menschen.
Wien. klin. Wschr., 76, 857, (1964)

116 SEGAL, S.J. a. W.O. NELSON:

Developmental aspects of human hermaphroditism:
the significance of sex chromatin pattern.
J. Clin. Endocrin., 17, 676, (1957)

117 SIEBNER, H.:

Die Bedeutung der Barrschen Zellkernkörper
beim Brustkrebs der Frau.
Med. Klinik München-Berlin, 6o, 1o78, (1965)

118 SNYDER, C.J.:

Untersuchungen über das Vorkommen der
Barrschen Körperchen (BK) bei Sarkomen
des Menschen.
Krebsarzt, 17, 4o2, (1962)

119 STEINMETZ, W.H. u. F.W. O'BRIEN jr.:

Die Behandlung des Mammakarzinoms und die
Komplikationen der Kobaltfernbestrahlung.
Fortschr. Röntgenstr., 96, 67o, (1962)

12o STICH, R. u. K.H. BAUER:

Lehrbuch der Chirurgie.
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg,
16./17. Aufl. (1958)

121 TRISKA, H.:

Das Karzinom der männlichen Brustdrüse.
Wien. med. Wschr., 112, 335, (1962)

122 WACHTLER, F.:

Strahlentherapeutische Probleme bei der Behandlung des Mammacarcinoms.
Krebsarzt, 15, 1, (196o)

123 WANKE, R.:

Mamma-Carcinom.
Dtsch. med. Wschr., 6, 225, (1957)

124 WANKE, R., R. GRAF u. G.P. MARZOLI:

Grundsätzliches zur endokrinen Chirurgie und Therapie maligner Tumoren.
Langenbeck's Arch. klin. Chir., 295, 96, (196o)

125 WEETH, J.B.:

Magic medicine for malignancy?
For endocrine-dependent tumours.
Med. Ann. D.C., 31, 2o3, (1962)

126 WILSON, R.E., A.G. JESSIMAN a. F.D. MOORE:

Severe exacerbation of cancer of the breast after oophorectomy and adrenalectomy. Report of four cases.
New Engl. J. Med., 258, 312, (1958)

127 ZANELLA, E., A. PERACCHIA u. L. CHIAMPO:

Über die Bedeutungslosigkeit des Geschlechtschromatins für die Behandlung von Tumoren hormonabhängiger Organe.
Zschr. f. Krebsforschung, 64, 83, (1961)

Herrn Professor Dr. med. Streicher danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. K. Hupe fühle ich mich zu besonderer Dankbarkeit verpflichtet für die Anweisungen, die ständige Bereitschaft für alle Fragen, für seine große Sorgfalt und Mühe.

Herrn Professor Dr. med. Gedigk danke ich für die Bereitstellung der histologischen Präparate, Herrn Professor Ihm für die Beratung zur statistischen Auswertung. Nicht vergessen sei die große Hilfe von Fräulein Wolf im histologischen Labor der chirurgischen Klinik, von Fräulein Schwab bei der statistischen Berechnung und von Fräulein Gottmann, die die letzte hier vorliegende Reinschrift anfertigte.

L E B E N S L A U F

Am 8. Dezember 1938 wurde ich als erstes Kind des Schreiners Josef Jung und seiner Ehefrau Maria geborene Guckelsberger in Hausen geboren. Mein Vater fiel 1943 in Rußland.
In Hausen besuchte ich von Herbst 1944 bis Ostern 195o die Volksschule und anschließend die Marienschule (Realgymnasium für Mädchen) in Limburg. Am 26. 2. 1959 erlangte ich dort das Reifezeugnis.
Vom Sommersemester 1959 bis zum Wintersemester 1961/62 studierte ich an der Philipps-Universität Marburg Humanmedizin. Dort legte ich am 6. 8. 196o die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 27. 1o. 1961 die Ärztliche Vorprüfung erfolgreich ab. Im Sommersemester 1962 setzte ich mein Studium an der Universität München fort und beendete es nach weiteren 4 Semestern an der Philipps-Universität Marburg, an der ich am 9. 3. 1965 die Ärztliche Prüfung mit Erfolg ablegte.
In der Medizinalassistentenzeit arbeitete ich 1 Monat an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg unter Leitung von Herrn Professor Dr. med. Schwaiger, 11 Monate an der Inneren Abteilung des Krankenhauses Koblenz-Ehrenbreitstein unter Leitung von Herrn Dr. med. Bresgen, 5 Monate an der Geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung der Städtischen Krankenanstalten Koblenz unter Leitung von Herrn Dr. med. Zander und 7 Monate an der Chirurgischen Abteilung des gleichen Krankenhauses unter Leitung von Herrn Professor Dr. med. Korth. Meine Bestallung als Ärztin erlangte ich am 3o. 6. 1967.
Ich bin seit 1966 mit Herrn Lorenz Wüst verheiratet. Wir haben zwei Kinder.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Marburg:

Amon, Beckmann, Berendes, Bickel, Bock, Bücher, Braun-Falco, Deicher, Dimroth, Dittrich, Dölle, Dorer, Erhardt, Exner, Gedigk, Gross, Hamm, Hartmann, Hensel, Hess, Hettler, Heuser, Hildebrandt, Hornung, Huber, Jakob, Kessler, Knauf, Kottmeyer, Lang, Linneweh, Löhr, Lübbers, Mahr, Martini, Marx, Mattes, Maurath, du Mesnil de Rochement, Müller, Neubauer, Niessing, Nieth, Öhmig, Oksche, Petry, Sauer, Schadewaldt, Schermuly, Schleyer, Schmid, Schmidt, Schmitz, Schölmerich, Schrappe, Schwaiger, Seidel, Siegert, Siess, Spiegelberg, Stein, Stender, Straub, Streicher, Stutte, Vogt, Walcher, Waller, Wegerle, Wendt, Würterle;

in München:

Bickenbach, Breitner, Burger, Döring, Dontenwill, Eder, Eyer, Kaiser, Kiese, Marchionini, May, Meyer, Oberniedermayr, Schink, Schwiegk, Wagner, Wiskott, Zenker.